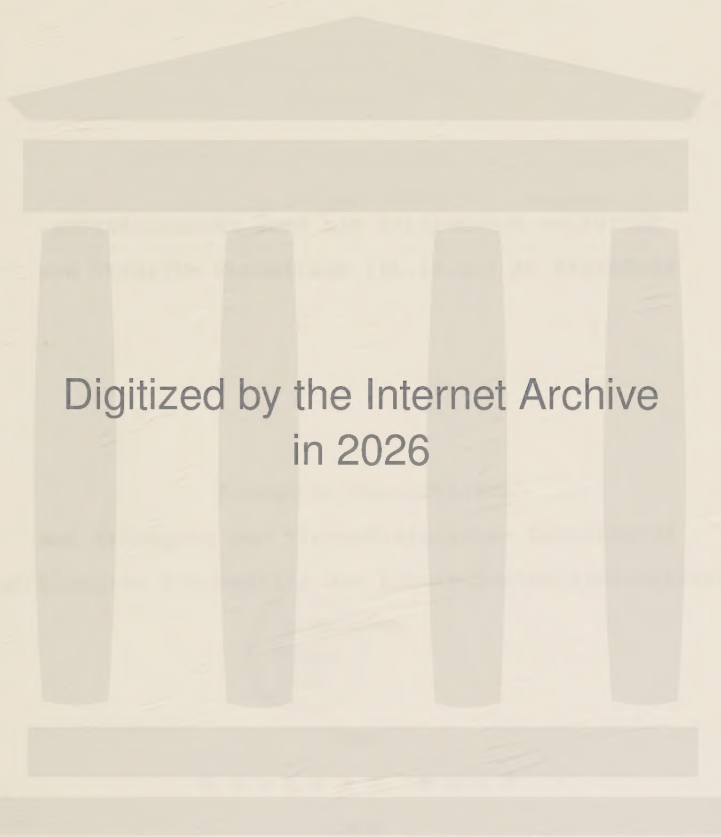


**UNTERSUCHUNGEN ÜBER DIE
KALZINOGENE AKTIVITÄT VON
TRisetum FLAVESCENS [(L.)P.B.]
AM KANINCHEN**

Manfred Wolf
—

1976
—



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41553810_0053

Lehrstuhl für Innere Krankheiten der Klauentiere
des Fachbereichs Tiermedizin der Universität München

Vorstand: Prof. Dr. G. Dirksen

UNTERSUCHUNGEN ÜBER DIE KALZINOGENE AKTIVITÄT
VON TRISETUM FLAVESCENS [(L.)P.B.] AM KANINCHEN

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde
des Fachbereichs Tiermedizin der Ludwig-Maximilians-Universität
München

von
M a n f r e d W o l f
aus
U l m

München 1976

Gedruckt mit Genehmigung des Fachbereichs
Tiermedizin der Universität München

Dekan: Prof. Dr. B. Vollmerhaus
Referent: Prof. Dr. G. Dirksen
Korreferent: Prof. Dr. J. von Sandersleben

Tag der Promotion: 30. Juli 1976



Meinen Eltern

Meinen Eltern

INHALTSVERZEICHNIS

EINLEITUNG	2
LITERATURÜBERSICHT	4
Bisherige Ergebnisse der Erforschung der enzootischen Kalzinose des Rindes	4
Vorbemerkungen zur Verwendung des Kaninchens als Versuchstier zur Erforschung von arteriosklerotischen Erkrankungen	8
Die Hypervitaminose-D beim Kaninchen	10
Experimentelle Untersuchungen mit Verabreichung von Solanum malacoxylon Sendtner an Kaninchen	15
Zum Kalzium-Phosphorstoffwechsel des Kaninchens	21
Zur Bedeutung der UV-Strahlung für die Vitamin-D-Bildung beim Kaninchen	27
Zum Vorkommen und der landwirtschaftlichen Bedeutung des Goldhafers	29
FRAGESTELLUNG	32
EIGENE UNTERSUCHUNGEN	34
Untersuchungsmaterial und -technik	34
Versuchstiere	34
Blutentnahme	34
Bestimmungsmethoden für die untersuchten Blutparameter	37
Pathologisch-anatomische Untersuchung	38
Statistik	39

Versuchsanordnung und Ergebnisse	40
Langzeitversuch I	40
Ergebnisse	45
Langzeitversuch II	49
Ergebnisse	57
Kurzzeitversuch	66
Ergebnisse	69
 BESPRECHUNG DER ERGEBNISSE UND SCHLUSSFOLGERUNGEN	 72
Der Einfluß der Bestrahlung der Tiere auf die Wirkung des Goldhafers	 72
Der Anstieg des Phosphorspiegels im Plasma als ein Kriterium der Goldhaferwirkung	 75
Gemeinsamkeiten von Vitamin D, Solanum malacoxylon und Trisetum flavescens in ihrer Wirkung am Kaninchen	 84
Beurteilung des Kaninchens als Versuchstier zur Erforschung der enzootischen Kalzinose	 86
 ZUSAMMENFASSUNG / SUMMARY	 87/91
 LITERATURVERZEICHNIS	 95

EINLEITUNG

Seit Anfang der sechziger Jahre wird in Grünlandbetrieben des bayerischen und österreichischen Alpenvorlandes eine neuartige Verkalkungskrankheit bei Rindern beobachtet. Das als "Enzootische Kalzinose" bezeichnete Leiden verläuft chronisch und äußert sich pathologisch-anatomisch durch das Auftreten von Verkalkungen in verschiedenen Weichgeweben, besonders im Kreislaufsystem. Die klinischen Symptome bestehen in Bewegungsstörungen und Abmagerung, verbunden mit Leistungsminderung (DIRKSEN, 1969; LIBISELLER und GUNHOLD, 1969).

Ähnliche Verkalkungskrankheiten sind bislang bei Rindern in Argentinien (COLLIER, 1927; CARILLO und WORKER, 1967), in Brasilien (DÖBEREINER et al., 1971), bei Pferden und Rindern in Florida (KROOK et al., 1975 a,b), bei Rindern auf Hawaii (LYND et al., 1965), auf Jamaica (ARNOLD, 1969), auf Neuguinea (COPLAND, 1975) und bei Ziegen in Israel (NEUMANN et al., 1973) beobachtet worden. Die Enteque seco in Argentinien und die Kalzinose in Brasilien (Espichamento) sind auf den Verzehr der Pflanze *Solanum malacoxylon* Sendtner zurückzuführen. Ebenfalls eine Solanazee ist *Cestrum diurnum*, die die Ursache der Kalzinose in Florida ist. Bei der Hypervitaminose-D werden ähnliche Erscheinungen beobachtet.

Da die genannten Ursachen bei der hierzulande beobachteten Verkalkungskrankheit nicht nachweisbar waren, wurden 1968 systematische Untersuchungen zur Klärung der hiesigen Kalzinose unternommen.

Sie führten zu dem Ergebnis, daß der Goldhafer, *Trisetum flavescens* (L.)P.B. , die Ursache dieser Rinderkalzinose ist (DIRKSEN et al., 1972, 1973, 1974).

Diese Untersuchungen wurden zum Teil an Kaninchen durchgeführt, wobei sich gezeigt hatte, daß bei dieser Tierart eine verhältnismäßig große individuelle Variation in den morphologischen Veränderungen zu beobachten ist. Aus diesem Grund erhob sich die Frage, ob die kalzinogene Wirkung des Goldhafers von der Sonnen- bzw. der UV-Bestrahlung der Tiere abhängig ist oder durch sie verstärkt wird. Bekanntlich wird unter dem Einfluß des Sonnenlichtes in der Haut aus Provitamin D₃ (7-Dehydrocholesterin) das Vitamin D₃ (Cholekalziferol) gebildet. Begleitend zu den morphologischen Untersuchungen erschien es von Interesse, die Auswirkungen von *Trisetum flavescens* auf den Ca-P-Stoffwechsel des Kaninchens zu prüfen, da aus Versuchen mit *Solanum malacoxylon* an Kaninchen bekannt ist, daß bei dieser Tierart eine sehr schnelle Steigerung des Phosphorgehaltes im Blutserum nach der oralen Aufnahme dieser Pflanze zu beobachten ist.

Da bisher eine Goldhaferwirkung am Kaninchen erst nach einer etwa dreimonatigen Versuchsdauer pathologisch-anatomisch nachweisbar war, erschien es von besonderem Interesse, nach einem Verfahren zu suchen, das es ermöglicht, frühzeitig, auch am lebenden kleinen Versuchstier eine etwa vorhandene kalzinogene Aktivität zu erkennen.

Bisherige Ergebnisse der Erforschung der enzootischen Kalzinose des Rindes.

In den ersten Untersuchungen über die enzootische Kalzinose wurden die Umweltverhältnisse der betroffenen Betriebe mit denen von kalzinosefreien Betrieben verglichen. Neben der geographischen Lage, dem Klima, den Bodenverhältnissen, der Trinkwasserzusammensetzung und der Mineralstoffversorgung wurden auch pflanzensoziologische Erhebungen der betreffenden Weiden berücksichtigt. Hierbei ist von Interesse, daß die Frequenz der Erkrankungen zum Ende der Weideperiode hin zunahm (DIRKSEN et al., 1970; SPIESS, 1974).

Es lag deshalb nahe, die Ursache in der Beschaffenheit der Weiden zu suchen und besonders auf Boden, Düngung und Pflanzenbestand zu achten. An den zeitlich unregelmäßig durchgeführten Blutuntersuchungen der Weiderinder im Verlauf von verschiedenen Weideperioden konnte eine außergewöhnliche Zunahme des anorganischen Serumphosphors zum Ende der jeweiligen Weidezeit hin beobachtet werden, während die Serumkalziumwerte in der Regel im Normalbereich lagen. Bei Kühen, die Anfang des Sommers in den betroffenen Bestand neu eingestellt wurden, stieg der Serumphosphorspiegel ebenfalls bis zum Herbst erheblich an, während sich der Serumkalziumspiegel nur anfangs bis zur oberen physiologischen Grenze bewegte (DIRKSEN et al., 1970; SPIESS, 1974).

Im Rahmen eines "Austauschversuchs" wurde eine an Kalzinose leidende Kuh in einen kalzinosefreien Bestand gebracht, während von diesem Betrieb zwei Kühe in den von der Krankheit betroffenen Bestand überführt wurden. Der klinische Zustand der kalzinosekranken Kuh besserte sich daraufhin und auch die Serumphosphorwerte lagen bei Grünfütterung und Stallhaltung deutlich unter denen der Weideperiode des vorangegangenen Jahres. Umgekehrt stiegen die Phosphorwerte der beiden anderen ausgetauschten Tiere während der Weideperiode an. SPIESS (1974) schreibt, daß ein Tierbesitzer die Erfahrung gemacht hat, daß die klinischen Symptome nicht so ausgeprägt in Erscheinung treten, wenn nach einem kurzen Weideaustrieb im Frühjahr eine drei- bis fünfwöchige Stallhaltungsphase folgt, in der die Tiere Grünfutter im Stall bekommen.

In einer weiterführenden Untersuchung (DIRKSEN et al., 1971) an drei Schafen mit selektiver Verfütterung von Klee, Gräsern und Kräutern, wie sie auf den Weiden eines von der Kalzinose betroffenen Betriebes vorkamen, konnte erstmals festgestellt werden, daß sich nur bei dem mit Gras ernährten Schaf Verkalkungen der Aorta abdominalis entwickelten. Die Wiederholung des Experiments im folgenden Jahr führte zu dem gleichen Ergebnis.

Ausgehend von diesen Untersuchungen, die einen Hinweis auf eine in den Gräsern enthaltene kalzinogene Wirksamkeit gaben, wurde 1971 an Kaninchen der Versuch unternommen, durch die Verfütterung der am häufigsten auf diesen Weiden vorkommenden Grasarten - Knaulgras, Goldhafer und ein Gräsergemisch - die Frage nach der Ätiologie der Kalzinose weiter einzuengen.

Es zeigte sich, daß nach 15-wöchiger Versuchsdauer nur die mit Goldhafer und dem Gräsergemisch gefütterten Tiere Verkalkungen der Aorta aufwiesen (DIRKSEN et al., 1972).

Im folgenden Jahr wurde an Kaninchen wiederum aus den betroffenen Weiden ausgelesener Goldhafer verfüttert, zudem bekam je eine Gruppe Goldhafer einer ungedüngten und gedüngten Goldhafermonokultur (DIRKSEN et al., 1973). Hier konnte nachgewiesen werden, daß die Verfütterung von Goldhafer, unabhängig vom Grad der Düngung, beim Kaninchen kalzinogen wirkt.

In experimentellen Untersuchungen zur Klärung der Kalzinose des Rindes in Österreich konnten KÖHLER und LIBISELLER (1974) die kalzinogene Wirkung des Goldhafers bestätigen. LEIBETSEDER et al. (1971) konnten mit Hilfe der Compartmentanalyse auf ^{32}P eine erhöhte Retention von Phosphor bei einer an Kalzinose erkrankten Kuh feststellen. KÖHLER et al. (1974) fanden bei Kaninchen nach viermonatiger Verabreichung von Goldhafer gering- bis mittelgradige, makroskopisch sichtbare Verkalkungsherde in der Brust- und Bauchorta. Histologisch wiesen diese Kaninchen eine mittel- bis hochgradige Kalkabscheidung in den Nierentubuli auf, während die Kontrollgruppe frei von solchen Veränderungen war. In einem anderen, zwei Monate dauernden Goldhafer-Fütterungsversuch an Kaninchen konnten diese Autoren keine kardiovaskulären Verkalkungen bei den Versuchstieren feststellen.

In einem späteren Experiment mit der Verfütterung von frischem Goldhafer an Kaninchen über zwei Sommer hinweg konnten LIBISELLER et al. (1976) ausgeprägte Verkalkungen der Brust- und Bauchaorta erzeugen; und zwar waren die elastischen Fasern in der innersten Schicht der Media verkalkt. In der Niere fanden sie subkortikal Kalkzylinder in den proximalen Tubuli und Nekrosen der Tubulusepithelien. Auch die Aa. interlobulares verkalkten. An den Knochen (proximaler Humerus und Femur) waren lammelläre Knochenappositionen zu finden, wodurch es zu einer Einengung des Markraumes kam.

Die Diagnose der Rinderkalzinose stützt sich auf die klinischen Erscheinungen, auf die Ergebnisse der Kalzium- und Phosphorbestimmung im Blutserum der erwachsenen Tiere eines Bestandes, sowie auf die bei der pathologisch-anatomischen Untersuchung feststellbaren Verkalkungen der Weichgewebe, im wesentlichen die Mineralablagerungen im Endokard, der Aorta und den Nieren. Weitere zu prüfende Lokalisationen sind die Zwerchfellsklappen der Lunge und die digitalen Beugesehnen. An den Gelenken finden sich häufig arthrotische Veränderungen. Histologisch sind in den Arterien subintimale Mediaverkalkungen erkennbar. Besonders auffällig sind die harten und dichten Knochen, in denen histologisch eine Osteomyelosklerose nachweisbar ist (DÄMMRICH et al., 1970).

Vorbemerkungen zur Verwendung des Kaninchens als Versuchstier
zur Erforschung von arteriosklerotischen Erkrankungen.

Nach Angaben von DAHME und WEISS (1968) können die bei den pflanzenfressenden Haussäugetieren, wie Rind, Pferd, Ziege und Kaninchen so häufig zu beobachtenden Mediaverkalkungen der Aorta und anderer Arterien dann den Arteriosklerosen zugerechnet werden, wenn neben den Mediaverkalkungen noch Intimaverdickungen bzw. -sklerosen mit Lichtungseinengung bestehen.

MILES (1907) fand bei 17 von 49 gesunden Kaninchen arteriosklerotische Veränderungen. JOHNSTONE (1907) berichtete über solche Veränderungen bei drei von neun Tieren, PEARCE (1908) bei drei von 51 Kaninchen. SEIFRIED (1937) beschrieb ebenfalls spontane Verkalkungen im Aortenbogen von weißer Farbe und derber Konsistenz mit Erhabenheiten oder Einziehungen an der Innenseite. Er führte weiter aus, daß aneurysmaähnliche Bildungen zustande kamen, wobei Wandverdickungen oder Wandverdünnungen auftreten konnten. Der Vorgang begann mit Schwund und Gewebstod der Muskulatur, dann erfolgten Dehnung und Zerreißen der elastischen Elemente und schließlich Hyalinisierung und Verkalkung. Bemerkenswert war, daß die inneren Schichten stärkere Veränderungen erfuhren als die äußeren. Es erkrankten sowohl jüngere als auch ältere Tiere.

Es wird zwar von spontanen Verkalkungen berichtet, doch geht aus diesem Schrifttum nicht hervor, wie diese Kaninchen ernährt wurden und inwieweit Vitamin D-Gaben eine Rolle spielten.

IOPES DE FARIA (1955) konnte im Experiment bei Kaninchen regelmäßig Medianekrosen erzeugen, indem er die Tiere auf ein Brett schnallte und dieses so aufstellte, daß die Körperachse senkrecht stand. Dadurch trat nach einiger Zeit ein orthostatischer Kollaps ein. Schon nach ein- bis mehrmaliger Durchführung dieser Fixation fanden sich Nekrosen in der Aortenwand, besonders in der mittleren Schicht der Media. Zuerst entwickelten sich Nekrosen der Muskelfasern (in der Media); vom 1. bis 3. Monat häuften sich dann mukoide Substanzen an; es folgten Wucherungen des Bindegewebes und schließlich die Degeneration der elastischen Lamellen mit nachfolgender Verkalkung. Das häufige Vorkommen dieser Veränderungen in der Aorta thoracica führt der Autor auf hypoxische Zustände zurück.

Eine ähnliche Medianekrose beschrieben HESSE (1924), sowie NIEBERLE und COHRS (1949) nach Adrenalininjektion beim Kaninchen. Nach Ephedrinapplikation konnten BRIGGS und MELVIN (1961) während der Vasokonstriktion eine Zunahme der Kalziumionenkonzentration in der Media um 100 bis 200 % feststellen. Möglicherweise ist dieser Kalziumeinstrom, der einhergeht mit einer Verdichtung des Gels in der Aortenwand (THIELE, 1967), ursächlich an der Hypoxie und der Muskelfaserdegeneration mit ihren Folgen beteiligt.

Daneben ist bekannt, daß sich beim Kaninchen leicht Atherosklerosen durch die übermäßige Verfütterung von cholesterolhaltigem Futter erzeugen lassen. Hierbei entstehen überwiegend Lipidablagerungen in der Aortenintima (CLARKSON, 1972), die nachfolgend verkalken.

Aber auch nichtatherogene Arteriosklerosen lassen sich beim Kaninchen erzeugen. Dies zeigte sich in Versuchen, die im Rahmen der Erforschung der Hypervitaminose-D und der Entegue seco durchgeführt wurden.

Die Hypervitaminose-D beim Kaninchen

Die ersten Hinweise auf die Toxizität hoher Dosen bestrahlten Ergosterins (Vitamin D₂) brachten SCHMIDTMANN (1929), COLLAZO et al. (1929), SCHIFF (1930, GÖTTCHE und KELLNER (1931). Bei längerer Verabreichung von hohen toxischen Dosen dieses antirachitisch wirksamen Vitamins konnte SCHMIDTMANN (1929) am Kaninchen eine Knochenerweichung feststellen. ASHFORD (1930) konnte dies an Kaninchen, denen er einen Monat lang täglich 10 mg bestrahltes Ergosterin oral verabreichte, nicht beobachten. Bei diesen Versuchen fand ASHFORD jedoch ausgedehnte Verkalkungen in der Aorta und der Niere. SCHIFF (1930) beschreibt bei Kaninchen band- und schlangenförmige Mediaverkalkungen der Aorta, sowie Protoplasmaquellungen und -degenerationen zwischen den Fasern.

Nach GÖTTSCHE und KELLNER (1931) treten die Verkalkungen in den Organen in folgender Reihenfolge auf: Niere, Aorta, Herz, Magen, Lunge, periphere Muskeln und Organe innerer Sekretion. Die Empfindlichkeit der einzelnen Tierarten nimmt von der Maus über das Kaninchen, zu Katze, Ratte, Meerschweinchen, Hund, Schwein und Kuh hin ab (GÖTTSCHE und KELLNER, 1931; LINDT, 1968). In Kaninchennieren sind Kalkablagerungen besonders in den Epithelien der Schaltstücke und der Henleschen Schleifen nachweisbar (JAFFE, 1931). Manchmal liegen Kalkmassen scheinbar im Inneren der Kanälchen. Nach der Ansicht JAFFEs handelt es sich dabei um losgelöste, verkalkte Epithelzellen.

Die Verkalkungen entstehen dann, wenn die Vitaminmengen den Bedarf um das 100 bis 1000-fache übersteigen. Die parenterale Verabreichung scheint gefährlicher zu sein als die orale. Experimentell läßt sich eine Hypervitaminose-D beim Kaninchen leicht erzeugen, wenn 45000 bis 600000 I.E. in kurzen Intervallen eingespritzt werden. Die Tiere magern dann innerhalb weniger Tage ab. Je nach Dosis können völliger Kräfteverfall und Tod schon innerhalb einer Woche eintreten (SPÖRRI und STÜNZI, 1969). Durch Versuche ist festgestellt worden, daß Kaninchen bei Verabreichung der geringen Dosis von zwei Tropfen Vigantol täglich innerhalb von zwei Monaten zugrunde gehen (SEIFRIED, 1934). ASHFORD (1930) beobachtete an Kaninchen mit Vitamin-D-Intoxikation Symptome wie Nahrungsverweigerung und Abmagerung. KITZ (1950) beschreibt lediglich anämische Erscheinungen.

EISENSTEIN und ZEROULIS (1964) konnten mit zweimal wöchentlich 100 000 I.E. Vitamin D bei Weißen Neuseeländern in vier Wochen intensive arterielle Verkalkungen erzeugen. Sie beschreiben neugebildete intimale Zellkissen aus Myointimazellen, in denen keine Kalkablagerungen gefunden werden. Dagegen verkalkt fast jede Struktur der Media, doch ist der Grad der Empfänglichkeit der verschiedenen Bestandteile der Media für Kalkablagerungen unterschiedlich. Das elastische Gewebe scheint als erstes zu verkalken. Auch die Kristallstruktur zeigt innerhalb der Media Unterschiede hinsichtlich Anordnung und Größe der Kristalle.

Neben den genannten morphologischen Veränderungen bei der Hypervitaminose-D, tritt bei Omnivoren eine Steigerung des Ca-Gehaltes des Blutes ein, bei Herbivoren ist dagegen mehr eine Steigerung des P-Gehaltes zu beobachten (COHRS, JAFFE und MEESSEN, 1958).

WARKANY (1928, a) beschreibt sogenannte "phosphatämische Kurven", worunter er den Verlauf des Serumphosphors beim Kaninchen nach oraler Verabreichung von Phosphaten versteht. Im Rahmen seiner Arbeiten an rachitischen Kindern stellte er fest, daß diese phosphatämische Kurve einen bedeutend flacheren Verlauf zeigt, als bei gesunden Kindern (WARKANY, 1928, b). Nach der Behandlung mit Vigantol stieg aber die phosphatämische Kurve der rachitischen Kinder rapide an, obwohl klinisch und röntgenologisch noch eine floride Rachitis bestand.

An gesunden Kaninchen wies er nach, daß die experimentelle Erhöhung des Vitamin-D-Bestandes eine Erhöhung der phosphatämischen Kurve zur Folge hat und daß sie einen sehr empfindlichen Indikator für Veränderungen des Vitamin-D-Bestandes darstellt (WARKANY, 1928, b; 1929; 1930, a). Zu diesem Nachweis können normale Kaninchen ohne jede Vorbereitung verwendet werden.

Zur Klärung des Verhaltens der Phosphatausscheidung unter der Hypervitaminose-D wählte WARKANY (1930, b) wieder das Kaninchen als Versuchstier. Wie er feststellte, scheiden mit frischem Wiesengras ernährte Kaninchen im Harn kein Phosphat aus. Die beobachtete hohe Phosphatausscheidung - es handelt sich nur um anorganisches Phosphat - nach Vigantolverabreichung (20 bis 100 mg bestrahltes Ergosterin) ist bei diesen so ernährten Tieren eine spezifische Wirkung des bestrahlten Ergosterins. Diese Versuchsanordnung ist nach WARKANY und WASITZKY (1932) ebenfalls zum Wirkungsnachweis des Vitamin D geeignet.

ASHFORD (1930) prüfte an Kaninchen die Wirkung von 10 mg bestrahltem Ergosterin und stellte einen Anstieg der Konzentration des anorganischen Phosphors im Serum fest, während sich der Gehalt an organischem Phosphor nicht änderte. Die Kalziumkonzentration im Serum lag bei der Hypervitaminose-D über derjenigen der Kontrolltiere. Der Anstieg des Serumgehaltes an Kalzium erfolgte langsamer, als die Zunahme des

anorganischen Phosphors. Zudem ist die Harnausscheidung an anorganischem Phosphat (siehe auch WARKANY, 1930, b) und an Kalzium erhöht. Nach Ende des Versuches blieb die erhöhte Phosphat- und Kalziumausscheidung durch die Nieren noch bestehen, wenn andere Symptome der Hypervitaminose bereits verschwunden sind.

Auf die Aktivität der alkalischen Phosphatase im Serum hat die Vitamin- D_3 -Medikation einen vermindernenden Einfluß (LAWSON, 1970).

Den Einfluß von Ca-EDTA auf das Auftreten von Aortenverkalkungen prüfte KOBYLINSKI (1971) am Kaninchen. Zwei Versuchsgruppen standen unter Vitamin- D_3 -Medikation ($3 \times 200\,000$ I.E. Vitamin D_3 innerhalb von 3 Wochen oral verabreicht). Einer der beiden Gruppen wurde täglich intravenös Na-EDTA verabreicht. Bei deutlich gesenktem Kalziumgehalt im Serum der mit Na-EDTA behandelten Gruppe über 21 Tage hinweg traten dennoch erhebliche Gefäßwand- und Organverkalkungen auf. Andererseits ergab die Bestimmung des Serumkalziums der nur mit Vitamin D behandelten Gruppe, daß die Hyperkalzämie keineswegs konstant war und der Grad der Gefäßverkalkungen nicht mit bestimmten Änderungen des Kalzium- und Phosphorspiegels korrelierte. Nach KOBYLINSKI scheidet damit die Hyperkalzämie als notwendige Voraussetzung für den hypervitaminotischen Gefäßschaden aus.

SPIRICHEV und BLAZHEIEVICH (1969) zufolge soll die Peroxydbildung eine wesentliche Rolle im Mechanismus der toxischen Wirkung des D-Vitamins spielen. Vitamin D beschleunigt die Peroxydbildung der ungesättigten Fettsäuren im wässrigen Milieu. Das könnte für die schädigende Wirkung auf die lipoproteidhaltigen zellulären Membransysteme und für die damit zusammenhängende Entkopplung der oxydativen Phosphorylierung verantwortlich gemacht werden. Lipidperoxyde sind außerdem hochtoxische Verbindungen (zit. n. KOBYLINSKI, 1971).

WINDAUS und LÜTTRINGHAUS (1931) stellten Vitamin D₁ und D₂ rein dar und wiesen darauf hin, daß beide Vitamine in sehr hohen Dosen giftig sind. Die Giftwirkung der Bestrahlungsprodukte ist durch die Vitamine selbst bedingt und stellt eine wirkliche Hypervitaminose dar.

Experimentelle Untersuchungen mit Verabreichung von Solanum malacoxylon Sendtner an Kaninchen.

Seitdem bekannt geworden ist, daß die Enteque seco - eine Kalzinose der Rinder in Südamerika - durch den Verzehr der auf den dortigen Weiden vorkommenden Solanazee Solanum malacoxylon Sendtner (S.m.) ausgelöst wird (CARILLO und WORKER, 1967; WORKER und CARILLO, 1967), ist das Hauptaugenmerk der nachfolgenden Arbeiten darauf gerichtet, die kalzinogene Substanz dieser Pflanze zu identifizieren und ihren Wirkungsmechanismus zu klären.

Bereits COLLIER (1927) erkannte, daß die an *Enteque seco* erkrankten Rinder sehr wahrscheinlich an einer durch *S.m.* hervorgerufenen, vielleicht toxisch bedingten Stoffwechselstörung leiden. Durch derartige Einflüsse läßt sich nach den Ausführungen COLLIERS bei Herbivoren eine Änderung im Kalkstoffwechsel besonders leicht erzeugen, da sie nach Untersuchungen von HANSEMANN (zit. n. COLLIER, 1927) in viel höherem Maße zu Kalzifizierungsprozessen neigen, als die Omnivoren. In den von COLLIER seinerzeit durchgeführten ersten Fütterungsversuchen an Kaninchen erwies sich die Pflanze *Solanum malacoxylon* jedoch nicht als giftig.

Später, nachdem CARILLO et al. (1966) die *Enteque seco* an Rindern mit einem wässrigen Extrakt aus *S.m.* experimentell erzeugen konnten und es GARCES et al. (1966) gelang, bei solchen Tieren eine Erhöhung des Ca-P-Produkts im Blutserum nachzuweisen, fanden GAGGINO et al. (1967), daß auch das Kaninchen sehr sensibel auf die Wirkung der aktiven Substanzen von *S.m.* reagiert.

ROSSI et al. (1969) beschrieben Versuche an Kaninchen, denen sie täglich einen wässrigen Extrakt aus 250 mg getrockneten Blättern von *S.m.* verabreichten. Schon nach der dritten Dosis konnten Myokard- und Aortenverkalkungen nachgewiesen werden. Es zeigten sich Verkalkungsherde sowohl in Herzmuskelzellen, Myokardarterien und der Aortenmedia, als auch in den Lungen, Nieren, Ovarien, Speicheldrüsen, der Milz, der Magenwand

und in den Lymphknoten. Bei den 20 Tieren waren stets Aorta, Niere, Lunge und Magen betroffen. Die Kalkablagerungen in der Aortenwand entstanden herdförmig auf den elastischen Membranen der Tunica media, anstoßend an die Lamina elastica interna. Diese Ablagerungen vermehrten sich mit der Zahl der verabreichten Dosen und bildeten zusammenfließende Flecken im inneren Drittel der Media. In der Niere verkalkten die Rindenarterien schon nach der Gabe von einer bis drei Dosen S.m. Im weiteren Verlauf beobachteten sie Kalkablagerungen in der Bowmanschen Kapsel, sowie in den Zellen und den Lumina der Tubuli contorti proximales und distales und der Sammelrohre. Die Verkalkungen in den Lungen begannen in den Knorpeln, in elastischen Fasern, in glatten Muskelfasern und Epithelien der Bronchial- und Bronchiolarschleimhaut und beschränkten sich nur auf diese Strukturen.

Neben diesen pathologisch-anatomischen Veränderungen untersuchten MAUTALEN et al. (1969) den Kalzium-Phosphorstoffwechsel beim Kaninchen nach der täglichen oralen Gabe eines wässrigen Extraktes aus 250 mg getrockneten Blättern von S.m. Bereits nach vier Stunden war ein Anstieg des Serumspiegels des anorganischen Phosphors zu ermitteln, der innerhalb eines Tages von 5,3 auf 8,4 mg/100 ml anstieg, während der Serumkalziumspiegel nur nach der ersten Dosis von 14,6 auf 15,7 mg/100 ml stieg und danach keine signifikanten Unterschiede mehr zum Basisspiegel zeigte (siehe auch MAUTALEN und ROSSI, 1970). Die Aktivität der alkalischen Phosphatase fiel nach 24 Stunden von 7,7 auf 3,7 mU/ml ab. Die Konzentration des

Serumharnstoffs stieg nach der dritten Dosis von 50 auf 141 mg/100 ml an, einhergehend mit der Zunahme der vorher beschriebenen Verkalkungen in den Nieren. MAUTALEN wertete die massiven Ablagerungen von Kalziumphosphat in Organen und Geweben als Folgeerscheinungen der beobachteten Blutveränderungen, die Aktivitätsverminderung der alkalischen Phosphatase deutete er als eine Hemmung des Knochenstoffwechsels.

In einer weiteren Arbeit über die Wirkung von S.m. bei dieser Spezies stellte MAUTALEN (1971) fest, daß hungernde Kaninchen einen geringeren Anstieg des Phosphor- und Kalziumspiegels im Serum haben, als gefütterte. Ferner fand er eine Beeinträchtigung der Nierenfunktion, da die Harnausscheidung an endogenem Kreatinin auf 54% des Ausgangswertes fiel, während der Plasmakreatininspiegel von 1,35 auf 1,80 mg/100 ml stieg. Da die renale Ausscheidung an Kalzium vom Kalziumgehalt der Nahrung abhängt, überstieg bei kalziumarmer Gemüsefütterung die Kalziumausscheidung die Kalziumaufnahme. Bei kalziumreicher Ernährung verringerte sich dagegen die vor Beginn der S.m.-Applikation festgestellte hohe renale Kalziumausscheidungsrate beträchtlich. Beidesmal wurde die faekale Ausscheidungsrate nicht berücksichtigt. Einen Tag nach der S.m.-Applikation stieg die Phosphaturie an. Der Anstieg des Phosphatclearance war jedoch von geringerer Höhe, als die Phosphaturie. Hinter dieser Erscheinung vermutete MAUTALEN eine verstärkte tubuläre Rückresorption von Phosphat.

Auch die intestinale Ca-P-Resorption war bei den Versuchstieren gegenüber den Kontrolltieren schon nach einer Stunde wesentlich höher (siehe auch WASE, 1972). Wie sich am Kaninchen nachweisen ließ, steigert S.m. die Freisetzung und Ausscheidung von ^{45}Ca und ^{40}Ca aus dem Knochen. Die renale Ausscheidung von Hydroxyprolin, einer hauptsächlich in der Knochenmatrix vorkommenden Aminosäure, zeigte unter dem Einfluß von S.m. keine nennenswerten Änderungen (MAUTALEN, 1971).

Beim Vergleich der Wirkungen von S.malacoxylon und Vitamin D auf die Kalzium- und Phosphorresorption aus dem Darm und den Knochen zeigte sich, daß die S.malacoxylon-Wirkung früher einsetzt und schneller wieder schwindet (MAUTALEN, 1972). WASE (1972) wies darauf hin, daß beim Kaninchen die ausgeprägten Verkalkungen der Weichgewebe, insbesondere die des Kreislaufsystems, durch Entzug der Droge nicht reversibel sind. Der Gehalt an kalziumbindendem Protein im Ileum war nach dem Füttern der Droge erhöht, und es gab auch einen positiven Hinweis auf Kalziphyllaxieerscheinungen in der Kaninchenhaut. Werden phosphatbindende Bestandteile, wie z.B. $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$, der Diät zugesetzt, so verhinderten sie die Phosphorresorption und verringerten das Auftreten von Verkalkungen (WASE, 1972).

In seinen Versuchen zur Erkennung der Aktivität von verschiedenen Extrakten aus S.m., wählte HUMPHREYS (1973) als Versuchstier ebenfalls das Kaninchen (Weiße Neuseeländer), und zwar wegen der bei dieser Tierart nach oraler Applikation von S.m. schnell eintretenden Hyperphosphorämie. Es zeigte sich

hierbei, daß die in Wasser, Methanol, Aethanol und Isopropanol löslichen Extrakte vom S.m. beim Kaninchen eine Hyperphosphorämie auslösen können.

LADIZESKY et al. (1974) fanden, daß sich beim Kaninchen auch nach subkutaner Verabreichung eines wässrigen Extraktes von S.m. eine Erhöhung des Serumphosphorspiegels erzeugen läßt. Die Wirkung auf parenteralem Weg ist jedoch wesentlich geringer, als die auf oralem Weg. Vergleichbare Ergebnisse konnten diese Autoren auch an Schafen gewinnen.

BASUDE und HUMPHREYS (1975) beobachteten am Kaninchen, daß nach der Gabe eines wässrigen Extrakts aus 2,5 g getrockneter Blätter von S.m. neben einer Erhöhung der Kalzium- und Phosphatausscheidung im Harn auch eine Erhöhung der Magnesiumausscheidung bei gleichbleibendem Magnesiumspiegel im Plasma eintritt. Weiterhin teilten sie mit, daß die intravenöse Verabreichung von 0,5 µg Aktinomycin D pro g Körpergewicht und die gleichzeitige orale Gabe der oben genannten S.m.-Dosis, die hyperphosphorämische Wirkung dieses Extrakts zu hemmen vermag.

WASSERMAN (1974) ermittelte an Küken, daß das mit der Nahrung aufgenommene Strontium die Umwandlung des 25-OH-Vitamin D₃ in das 1,25-(OH)₂-Vitamin D₃ in der Niere hemmt. Infolge dieser Hemmung wurde in der Darmschleimhaut kein kalziumbindendes Protein mehr gebildet. Wurde diesen so

vorbereiteten Küken S.m. gegeben, so setzte die Synthese dieses Proteins wieder ein und damit auch die Resorption von Kalzium aus dem Darm.

Zum Kalzium-Phosphorstoffwechsel des Kaninchens

Der Ca-P-Stoffwechsel des Kaninchens weist im Hinblick auf andere Tierarten einige Besonderheiten auf. Bereits JEAN-BLAIN (1946) beobachtete bei wachsenden Kaninchen, daß diese nach Futterumstellung von Luzerne auf Kohl im Wachstum zurückblieben. An Hand von pathologisch-anatomischen Untersuchungen und von Futteranalysen vermutete er ein Defizit an Kalzium bei dieser Ernährung. Bei Luzerne betrug das Ca-P-Verhältnis 8:1, bei Kohl 2:7 (KELLNER und BECKER, 1966). ITOH und HATANO (1960) schätzten den Kalziumbedarf des Kaninchens relativ hoch ein und betonten, daß Leguminosen wegen ihres hohen Protein- und Kalziumgehalts als Kaninchenfutter besonders geeignet sind.

Bei Fütterungsversuchen an Kaninchen mit Luzerne beobachtete STERNKOPF (1963) auf den Kotballen auffallend weiße Beläge, deren Analyse erhebliche Mengen an Kalzium ergab. Bilanzversuche bei Fütterung von Luzerne und Rotklee ergaben, daß das überhöhte Kalziumangebot vor allem durch die Ausscheidung über den Harn auf eine für den Organismus zuträgliche Menge gebracht wurde.

BESANCON und LEBAS (1969) verfütterten an 13 Monate alte Kaninchen eine Ca-P-reiche Ration mit 1,7 g Ca und 11 g P je kg Futter. Das aufgenommene Kalzium wurde zu 50 % resorbiert und zu 28 % retiniert. Diese niedrige Retentionsrate war auf eine verstärkte Ausscheidung von Kalzium über Niere und Darm zurückzuführen. Gegenüber anderen Haussäugetieren zeigte das Kaninchen demnach die Besonderheit, daß es bei hohem Kalziumangebot in der Nahrung nicht in der Lage war, das Resorptionsvermögen zu senken. Folglich mußte es die Ausscheidung an endogenem Kalzium erhöhen (ebenso NATALIS, 1972).

Die Kalziumresorption findet beim Kaninchen im Duodenum und Jejunum statt, nicht jedoch in hinteren Darmabschnitten (DAVENPORT, 1971). Dabei kann die Konzentration an radioaktiv markiertem Kalzium auf der Serosaseite bis auf das 13-fache der Konzentration im Darmlumen erhöht werden. Nach COWELL (1937) soll das Colon bedeutende Kalziummengen ausscheiden.

KENNEDY (1965) beobachtete an Weißen Neuseeländern ebenfalls eine hohe renale Kalziumausscheidung in Abhängigkeit zur Höhe der aufgenommenen Kalziummenge in der Nahrung (0,98 % Ca, in der Trockensubstanz, Ca:P=0,85). Während mit steigender Futtermenge die Harnausscheidung an Kalzium zunahm, blieb der Serumkalziumspiegel - ab einer Mindestfuttermenge über 80 g - unverändert bei 14,4 mg/100 ml. Die Verabreichung

einer Diät mit 1,7 % Kalzium in der Trockensubstanz (Ca:P=2,2) und 147 I.E. Vitamin D₃/kg führte jedoch zu einer unvergleichlich höheren renalen Kalziumausscheidung. Er führte den höheren Serumkalziumspiegel auf die Wirkung des Vitamin D₃ zurück, denn Tiere mit einem höheren Futterverzehr wiesen einen Serumkalziumspiegel von 15 mg/100 ml auf. Er erklärte das Zustandekommen der beträchtlichen renalen Kalziumausscheidung mit der Tatsache, daß 67 % des Kalziums diffusibel sind, daß dieses Kalzium an Zitrat gebunden ist und daß derart gebundenes Kalzium schlecht tubulär rückresorbiert werden kann. Der Zitratblutspiegel von 5 - 14 mg/100 ml lag viel höher, als z.B. der des Menschen. Vitamin D in Verbindung mit einem hohen Kalziumangebot in der Nahrung förderte die intestinale Kalziumresorption.

CHAPIN und SMITH (1967, a, b) stellten fest, daß der Blutkalziumgehalt beim Kaninchen die mit der Nahrung aufgenommene Kalziummenge widerspiegelte, wenn der Phosphorgehalt der Nahrung konstant gehalten wurde. Bei steigendem Kalziumgehalt der Nahrung stieg der Kalziumblutspiegel, während der Phosphorblutspiegel sank. Das Kaninchen verträgt besser hohe Anteile an Kalzium (bis 4,5 %) in der Nahrung und normale Phosphatgehalte (0,37 %) als umgekehrt. Bei steigendem Phosphatgehalt (über 1 %) in der Nahrung wird es zunehmend wichtiger, den Kalziumgehalt auf ein Ca-P-Verhältnis von 1:3 bis 1:1 einzustellen. Bei Rindern kann z.B. durch vermehrtes Zufüttern von Kalzium kein Anstieg des Serumkalziumspiegels erzeugt werden (JEAN-BLAIN, 1971).

Beim Kaninchen ist weiterhin der relativ hohe Serumkalziumspiegel bemerkenswert, der durchschnittlich bei 14,0 mg/100 ml liegt (LESNE, et al., 1971). Im Rahmen der Regulation des Serumkalziumspiegels scheint es dem Thyreokalzitonin zu obliegen, die Höhe der Kalziumkonzentration zu bestimmen. LEE et al. (1969) erzeugten experimentell am Kaninchen durch die intravenöse Infusion von CaCl_2 eine Hyperkalzämie unter deren Verlauf sie im peripheren Blut einen Thyreokalzitonanstieg beobachteten. Nach Absetzen der Infusion ging innerhalb kurzer Zeit die Hyperkalzämie auf den Ausgangswert zurück - vollkommen synchron mit der Abnahme des Thyreokalzitons. Diese Autoren werteten die Wirkung des Thyreokalzitons als sehr bedeutsam wegen seines fortwährenden Einflusses auf die Rate des Knochenumbaus und wegen der raschen Unterdrückung der Knochenresorption als Antwort auf eine hyperkalzämische Herausforderung. Zwischen dem Parathormon und dem Vitamin D einerseits und dem Thyreokalzitonin andererseits besteht eine Wechselwirkung, die die eigentliche Höhe des Kalziumniveaus im Blut bedingt. Weit unter den physiologischen Wert geriet der Kalziumspiegel nach der Ausschaltung des Parathormoneinflusses durch die Thyreoidektomie, da die intrathyreoidal liegenden Nebenschilddrüsen bei der Thyreoidektomie mit entfernt wurden.

Bei der Untersuchung des Phosphorbedarfs wachsender Kaninchen stellten MATHIEU und SMITH (1961) fest, daß sich auch der Phosphorgehalt der Nahrung im Serumphosphorgehalt wieder-

spiegelt. Sie fanden heraus, daß bei der mit Dikalziumphosphat auf einen Phosphorgehalt von 0,22 % (in der Trockensubstanz) eingestellten Diät eine optimale Mineralisation der Knochen gewährleistet wurde. Die Blutuntersuchungen veranschaulichten, daß die Anhebung des Phosphatgehalts auf 0,32 % mit nur einer geringen Steigerung des Serumphosphorspiegels und gleichbleibender Aktivität der alkalischen Phosphatase im Serum verbunden war, während bei einem Phosphorgehalt unterhalb des Mineralisationsoptimums der anorganische Serumphosphorspiegel erniedrigt und die Aktivität der alkalischen Phosphatase erhöht war. Von Einfluß auf die Resorption und Mineralisation war gewiß der Gehalt von 600 I.E. Vitamin D_3 /kg in dieser Diät. Der Anteil des Dikalziumphosphats am Gesamtphosphat dieser Diät war für Kaninchen hoch nutzbar, während der organisch gebundene Phytinphosphor für sie kaum auswertbar war.

Die Phosphorresorption erfolgt im Dünndarm. Der aktive Transport der Phosphationen durch das resorbierende Epithel ist an die Anwesenheit von Vitamin D und von Kalziumionen gebunden (KOLB, 1974). Beim Kaninchen ist die höchste Aktivität der alkalischen Phosphatase in der Darmschleimhaut, der Nierenrinde und dem Rippenknorpel anzutreffen (MILHAUD und FONTAINE, 1965). NORMAN (1974) berichtete über einen Anstieg der intestinalen alkalischen Phosphatase und der kalziumstimulierenden ATPase nach der Applikation von Cholecalciferol (Vit. D_3).

Der Phosphorgehalt und die Aktivität der alkalischen Phosphatase im Serum sind altersabhängig, was im wesentlichen auf die Sekretionsrate des im Hypophysenvorderlappen gebildeten Wachstumshormons (STH) zurückzuführen ist. Die unter dem Einfluß des STH zu beobachtende Steigerung der Osteoblastentätigkeit führt zu einer Aktivitätssteigerung der alkalischen Phosphatase im Serum, während der Zusammenhang zwischen der Osteoblastentätigkeit und dem Serumphosphorgehalt weniger eindeutig ist. Wachsende Tiere haben gegenüber erwachsenen Tieren sowohl einen deutlich erhöhten Serumphosphorspiegel, als auch eine hohe Aktivität der alkalischen Phosphatase. Eine Altersabhängigkeit dieser Blutparameter wurde auch beim Kaninchen gefunden. Androgene und östrogene Steroide senken den STH-Spiegel und die Phosphorkonzentration im Serum (UNSHELM und FLOCK, 1967).

Unter Beachtung der Tatsache, daß das Kaninchen vom Verdauungstrakt her für die Aufnahme großvolumiger Pflanzennahrung eingerichtet ist (NATALIS, 1971), ist es interessant, daß bei der Fütterung von frischem Wiesen gras im Harn kein Phosphat ausgeschieden wird. Bei phosphatreicher Nahrung erfolgt jedoch eine renale Ausscheidung von anorganischem Phosphat. Bei Verabreichung von Vitamin D in hohen Dosen ist diese Reaktion ebenfalls zu beobachten (WARKANY, 1930, b).

Zur Bedeutung der UV-Strahlung für die Vitamin-D-Bildung beim Kaninchen.

Die Erdatmosphäre läßt vom UV-Spektrum des Sonnenlichts nur die Strahlungsanteile UV-A (400 - 315 nm) und UV-B (315-280 nm) durchtreten, während UV-C (280 - 100 nm) zurückgehalten wird. An der spektralen Verteilung der Globalstrahlung hat UV-A einen Anteil von 5,9 %, UV-B 3,5 %, das sichtbare Licht 52,1 % und Infrarot 41,6 %. Die Tagessummen der UV-A und UV-B-Anteile der Globalstrahlung hängen vom Sonnenstand und der jahreszeitlichen Tageslänge ab. Im Frühjahr erhält man höhere UV-B-Werte, als im Herbst, was darauf zurückzuführen ist, daß UV-B vom Ozongehalt der Atmosphäre absorbiert wird und dieser im Frühjahr in niedrigerer Konzentration vorhanden ist (SCHULZE, 1970).

Die biologische Wirkung der Ultraviolettstrahlung äußert sich folgendermaßen: UV-A ruft durch die Oxydation von Pro-melanin zum Melanin in den Basalzellen der Haut eine direkte Verfärbung hervor, ohne eine entzündliche Veränderung. Das UV-B - bei künstlichen UV-Strahlern auch das UV-C - erzeugt hingegen ein Erythema solare einige Stunden nach der Bestrahlung. Die biologische Wirkung bei UV-B und UV-C besteht in einer Zellkernschädigung, einer nachfolgenden, entzündlichen Reaktion mit Histaminausschüttung, der Verdickung der Epidermis und einer Pigmentneubildung im Stratum spinosum. Daneben entstehen in der Haut Sulphydrilkörper, deren Reduktionsfähigkeit durch die Strahlung erhöht wird, was sich in einer Aktivierung von Profermenten äußert (SCHULZE, 1970).

Eine bedeutende photochemische Reaktion ist die Bildung der antirachitisch wirksamen Vitamine. Die Umwandlung des Ergosterins in Ergokalziferol (Vit. D₂) und des 7-Dehydrocholekalziferols in Cholekalziferol (Vit. D₃) erfolgt durch UV-B und UV-C (KARLSON, 1970). WINDAUS und LÜTTRINGHAUS (1931) beschreiben die Reindarstellung von Vitamin D₂ durch die Bestrahlung bei 290 nm. aber auch bei 265 nm.

Neben der Förderung der Knochenmineralisation über die Vitamin-D₃-Bildung in der Haut bewirkt die UV-Strahlung eine Intensivierung der Atmung und die Stimulierung innersekretorischer Organe und des Stoffwechsels. Die Auswirkungen der UV-Strahlung treten weniger durch ihre Anwesenheit in Erscheinung, als vielmehr durch die Schäden, welche ihr Mangel verursacht. Vor übermäßiger und damit schädlicher UV-Einwirkung werden Säugetiere durch ihr Fell weitgehend geschützt. Aber auch das Schwein und der Mensch besitzen in ihrer Epidermis einen guten Strahlenfilter, mit dem sie in der Lage sind, den UV-B-Anteil der Strahlung bis auf einen Rest von 16 % zu absorbieren bzw. zu reflektieren (STEPHAN, 1964).

Die Wellenlänge von 297 nm übt neben maximaler Erythemwirkung zugleich eine maximale antirachitische Wirkung aus. Die Erythemwirkung kann als Gradmesser für die Vit.D₃-Wirkung herangezogen werden. Verlaufskurven von Erythemwirkung und antirachitischer Wirkung wurden bei verschiedenen UV-Wellenlängen auch an rasierten Kaninchen erstellt. Dabei war eine

voraussichtliche Schutzwirkung der Haare unberücksichtigt geblieben. Spektralphotometrische Messungen zeigten, daß die UV-Durchlässigkeit der Behaarung bei Kaninchen 11 % betrug. Damit ähnelt Kaninchenwolle sehr der Merinowolle. Die Durchlässigkeit wird weiterhin herabgesetzt durch die zunehmende Pigmentierung der Haare (SCHLEY, 1965).

In ihrer Untersuchung schätzten BIANCA und WEGMANN (1974) den voran genannten Durchlässigkeitswert der Behaarung als sehr hoch ein. Sie stellten fest, daß das Haarkleid in normaler Lage UV-Strahlen abschirmt. Mit zunehmender Dichte des Haarkleids erfolgte die Abschirmung fast vollständig. Sie kamen zum Schluß, daß bei Weidetieren die Vitamin-D-Bildung in erster Linie an unbehaarten oder wenig behaarten Körperstellen stattfindet.

Nach JEAN-BLAIN (1971) gab es einen leichten Anstieg der Kalzämie bei Rindern, die während der Sommermonate der Sonne ausgesetzt waren. KIELSZNIA (1966) erreichte durch die täglich 10 Minuten dauernde Bestrahlung von Kälbern mit einer 1000 Watt Hg-Lampe während des Winters einen um 2,5 % höheren Kalzium- und einen um 4 % höheren Phosphorblutspiegel.

Zum Vorkommen und der landwirtschaftlichen Bedeutung des Goldhafers.

Nach KLAPP (1971) ist der Goldhafer *Trisetum flavescens*

(L.) Beauv. vornehmlich ein Mäh-, bedingt auch ein Weidegras des Berg- und Hügellandes. Dieses in lockeren Horsten wachsende Mittelgras ist empfindlich gegen Staunässe und winterkaltes Festlandsklima, jedoch wetterfest und wenig trockenheitsempfindlich. Es ist das wichtigste Gras der Bergfettwiesen, bestandsbildend mehr auf Mäh-, weniger auf intensiv genutzten Weideflächen (BECKER und NEHRING, 1967). Dieses ausdauernde Gras darf nicht zu stark beweidet werden (Sortenratgeber, 1968). Sämtliche Goldhafersorten entwickeln Halme, die vielleicht wegen der stärkeren Behaarung von Rindern nicht immer gern aufgenommen werden. Dagegen wird das auch gehaltlich hochwertige Heu ohne weiteres verzehrt.

Goldhafer wird als wertvolles Futtergras eingeschätzt und hat die Futterwertzahl 7 (KLAPP, 1971). Durch seine Fähigkeit zur Halmbildung erhält man beim Goldhafer einen reichen Nachwuchs nach dem Schnitt, verbunden mit einem gleichmäßigen und sicheren Nachtrieb vieler Blätter (KLITSCH, 1960). Für den prozentualen Anteil an Blättern, Stengel und Blütenstand zum Zeitpunkt des Rispenschiebens gibt KLAPP (1971) folgende Werte in der absoluten Trockenmasse an: Blatt 18,4 % (17-20), Stengel 66,8 % (65 - 69), Blütenstand 14,8 % (13-16). Hinsichtlich seines Gehalts an Roheiweiß, Rohfaser, Fett, Asche, an Kalzium, Phosphor und Vitamin D liegt der Goldhafer im Rahmen der auch bei anderen Grasarten gefundenen Werte.

Beim Goldhafer (1. Schnitt in der Blüte, 28% Trockensubstanz) wird für Kalzium ein Gehalt von 1,41 g, für Phosphor von 0,81 g/kg Grünfutter angegeben. Im Vergleich dazu enthält frisches Knaulgras (1. Schnitt in der Blüte, 27 % Trockensubstanz) 1,04 g Kalzium und 0,91 g Phosphor pro kg (BECKER und NEHRING, 1967).

FRAGESTELLUNG

Wie bereits im vorangegangenen Kapitel ausgeführt wurde, gleicht das durch *Trisetum flavescens* hervorgerufene Krankheitsbild bei Rindern, Schafen und Kaninchen weitgehend dem der Hypervitaminose D. Nach SPIESS (1974) sollen die Kalzinosesymptome bei Rindern nicht so ausgeprägt in Erscheinung treten, wenn nach einem kurzen Austrieb im Frühsommer eine 3- bis 5-wöchige Stallhaltungsphase folgt, in der die Tiere Grünfutter im Stall erhalten. Demgegenüber steht jedoch die Beobachtung, daß auch während der Stallhaltung im Winter bei Heufütterung Krankheitssymptome auftreten können. In den nachfolgend beschriebenen Versuchen an Kaninchen sollte daher geprüft werden, ob möglicherweise die Goldhaferwirkung von der UV- oder Sonnenbestrahlung abhängig ist, oder durch sie verstärkt wird.

Ferner interessierte die Frage, ob sich die Goldhaferwirkung ebenfalls über eine Änderung der Ca-P-Plasmawerte nachweisen läßt, ähnlich wie dies nach der Verabreichung der Pflanze *Solanum malacoxylon* an Kaninchen zu beobachten ist.

Da nach den bisher durchgeführten Fütterungsversuchen mit Goldhafer an Kaninchen sowohl sehr starke, als auch makroskopisch kaum wahrnehmbare bzw. keine Verkalkungsherde in der Aorta nachgewiesen wurden, ist es für weiterführende Unter-

suchungen notwendig zu wissen, wie zuverlässig Kaninchen bei Goldhaferfütterung mit Verkalkungen reagieren.

Weiterhin sollte am Kaninchen geprüft werden, ob eine Abhängigkeit der Wirkung von der Menge und Qualität des verzehrten Goldhafers besteht.

EIGENE UNTERSUCHUNGEN

Untersuchungsmaterial und -technik

Versuchstiere

Für die nachfolgend beschriebenen beiden Langzeitversuche fanden Kaninchen einer Mischrasse Verwendung, die aus der Zucht eines Züchters aus dem Raum Giessen stammten. Zum Zeitpunkt des jeweiligen Versuchsbeginns waren die Tiere des ersten Versuchs 5 Monate alt, die des zweiten Versuchs 4 Monate. Das Gewicht der Tiere lag zwischen 2,8 und 3,3 kg. Es handelte sich um Tiere beiderlei Geschlechts, die Mehrzahl der 21 Tiere waren wildfarben, zwei hatten braunes, zwei schwarzes und eines weißes Fell. Nach Versuchsende wurden diese Tiere zur Sektion getötet.

Die für den Kurzzeitversuch verwendeten Kaninchen gehörten der Rasse der "Deutschen Riesenschecken" an. Die 4 Kaninchen waren Geschwister, 2 männliche und 2 weibliche Tiere. Sie waren bei Versuchsbeginn 4 1/2 Monate alt.

Blutentnahme

Die Blutentnahme wurde bei den Versuchskaninchen an den Entnahmetagen jeweils morgens vorgenommen, wobei die Reihenfolge der Tiere immer die gleiche blieb. Bei den beiden Langzeitversuchen I und II erfolgte die Blutentnahme einmal wö-

chentlich, während sie bei dem Kurzzeitversuch täglich durchgeführt wurde.

Zur Blutentnahme wurde das Kaninchen mit dem Nackengriff aus dem Käfig gehoben, auf einer Neigungstafelwaage gewogen und dann in den abgebildeten Zwangskasten gesetzt (Abbildung 1). Dieser hatte die Innenmaße von 20 x 20 x 21 cm, war an der Schmalseite mit einem 6,5 x 6 cm großen Ausschnitt versehen und konnte je nach Größe des Tieres von 21 cm auf 24 cm, 27 usw. erweitert werden. Nach dem Herunterklappen des Deckels war das Kaninchen in dem relativ engen Raum gut fixiert, wodurch es dem Tier kaum gelang, den außerhalb des Kastens befindlichen Kopf durch den Halsausschnitt wieder zurückzuziehen.

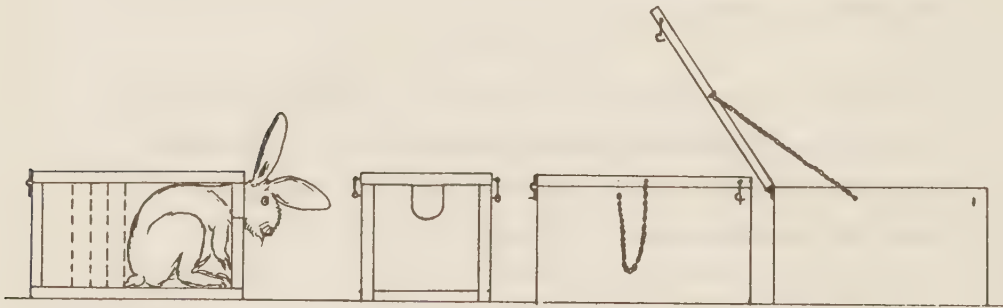


Abb. 1: Schema des Kastens zur Fixierung des Kaninchens bei der Blutentnahme aus der Ohrtrandvene.

Die Blutentnahme erfolgte aus der Ohrrendvene. Dazu wurde ein Ohr mit der linken Hand an der Spitze erfaßt, nach unten gezogen und stets unter einer gewissen Spannung gehalten. Mit der rechten Hand wurde auf der Ohraußenfläche die Behaarung im Verlauf der kaudalen Ohrrendvene ausgezupft. Anschließend wurde die kahle Fläche mit einem mit 70 %igem Alkohol getränkten Tupfer mehrmals abgerieben, worauf sich die Ohrrendvene deutlich abzeichnete. In manchen Fällen bewährte sich ein zusätzliches Trockenreiben mit dem Handballen, um die Vene noch stärker hervortreten zu lassen. Mit der rechten Hand wurde nun eine absolut einwandfreie Rekordkanüle (Stärke 0,8,0,9 oder 1) in sehr kleinem Winkel zur Vene angesetzt und sehr gefühlvoll die Vene punktiert, um kein zu großes Trauma zu setzen. Danach wurde das Ohr mit der linken Hand unter Beibehaltung der Anfangsspannung weiter nach unten gesenkt, wobei der herabhängende Kanülenkonus mit dem Mittelfinger etwas unterstützt wurde. Das langsam und stetig heraustropfende Blut wurde in einem Eppendorf Reaktionsgefäß (Nr. 3810) aufgefangen. Zur Vermeidung der Blutgerinnung wurde zuvor die Innenwand dieses Reaktionsgefäßes mit einer Spur Heparin-Natrium (Vetren^R) leicht bestäubt. Die gewonnene Blutmenge von 1 - 1,6 ml reichte für die durchzuführenden Analysen aus. Nach der Blutentnahme wurde das geschlossene Reaktionsgefäß zweimal umgeschwenkt.

Nach dem Entfernen der Kanüle wurde die Punktionsstelle mit einem Zellstofftupfer solange komprimiert, bis kein Blut mehr durchdrang. Damit wurde die Narbenbildung sehr klein

gehalten und die Durchgängigkeit der Vene blieb erhalten. Bei der folgenden Punktion konnte die Kanüle dann 5 mm näher zum Ohrgrund hin angesetzt werden. Wurde diese Methode an beiden Ohren durchgeführt, so konnte eine große Anzahl an Punktionen vorgenommen werden. Während der 5-minütigen Manipulation verhielten sich die Kaninchen meistens ruhig. Anschließend begannen sie ohne Zögern wieder mit der Nahrungsaufnahme.

Nach der Blutentnahme wurden die Blutproben 2 Minuten lang in der Eppendorf Zentrifuge 3200 (max. Umdrehung 12 000/min.) zentrifugiert. Unmittelbar darauf wurde das Plasma in Eppendorf Reaktionsgefäße pipettiert. Die Plasmaproben wurden entweder gleich aufgearbeitet, oder bei -18°C bis zur Aufarbeitung gelagert.

Bestimmungsmethoden für die untersuchten Blutparameter

Die Plasmaproben wurden auf die Konzentration von Kalzium, anorganischem Phosphat und auf die Aktivität der alkalischen Phosphatase untersucht.

Die Konzentration des Kalziums wurden flammenphotometrisch mit dem Eppendorf Flammenphotometer nach dessen Arbeitsanleitung bestimmt.

Der anorganische Phosphor im Plasma wurde photometrisch bei 578 nm mit Hilfe des Tests "Phosphor-S, anorganischer

Phosphor" der Firma Haury, München, bestimmt. Die Aktivität der alkalischen Phosphatase wurde photometrisch bei 405 nm mit Hilfe der Biochemica-Test-Combination "Alkalische Phosphatase, 3-min-Methode" der Firma Boehringer, Mannheim, gemessen. Als Kontrollserum diente für die Kalzium- und Phosphorbestimmung "Precinorm S", für die der alkalischen Phosphatase "Precinorm E" (Firma Boehringer, Mannheim).

Nach HALL und WHITEHEAD (1970) hat die Lagerung in Plastik-Sammelgefäßen keinen Einfluß auf die Kalziumkonzentration im Plasma. Nach RICHTERICH (1971) hat Heparin neben der gerinnungshemmenden Wirkung auch noch eine stabilisierende Wirkung auf die zelligen Bestandteile des Blutes und verhindert somit ein Austreten von anorganischem Phosphat aus den Erythrozyten, was bei der Hämolyse zwangsläufig eintritt. Den Ausführungen von GOLDSMITH und PARRY (1966) nach hat Heparin in vitro keine Auswirkungen auf die Kalziumkonzentration des Plasmas. Nach SLESINGER (1970) ändert sich die Aktivität der alkalischen Phosphatase des Serums fast nicht innerhalb der ersten 10 Stunden nach der Blutentnahme bei 4 °C Lagertemperatur. Tiefgefroren bleibt die alkalische Phosphatase sieben Tage lang stabil (RICHTERICH, 1971).

Pathologisch-anatomische Untersuchung

Nach Beendigung der Versuche I und II wurden die Versuchskaninchen durch Genickschlag und Entbluten geschlachtet (vgl. UFAW, 1972). Bei der folgenden Sektion wurde besonders auf

Veränderungen des Herzens, des Aortenbogens, der A. carotica, der Aorta thoracalis und abdominalis, der Lungen und der Nieren geachtet. Präparate dieser Organe wurden für die histologische Untersuchung in 5%-iger Formalinlösung konserviert. Histologische Schnitte wurden vom Aortenbogen, der Aorta thoracalis und abdominalis, der A. carotica (im Querschnitt des Kehlkopfbereichs), von der Lunge und den Nieren angefertigt und mit Hämatoxylin-Eosin und nach van Kossa gefärbt.

Die pathologisch-anatomischen Untersuchungen der entnommenen Organproben wurden im Institut für Tierpathologie der Universität München, Lehrstuhl für Allgemeine Pathologie und Pathologische Anatomie (Vorstand: Prof. Dr. J. von Sandersleben) durchgeführt.

Statistik

Die statistische Auswertung der Versuchsergebnisse wurde auf dem Wege der zweistufigen hierarchischen Varianzanalyse mit Hilfe des Institutes für Tierzucht und Tierhygiene der Universität München, Lehrstuhl für Tierzucht, Tierhaltung und Tierfütterung, einschließlich Landwirtschaftslehre (Vorstand: Prof. Dr. H. Kräußlich) durchgeführt.

Versuchsanordnung und Ergebnisse

In den nachfolgend beschriebenen beiden Langzeitversuchen I und II sollte geprüft werden, welchen Einfluß die UV-Strahlung bzw. das Sonnenlicht auf die Entwicklung der durch die Aufnahme von *Trisetum flavescens* verursachten Kalzinose beim Kaninchen auszuüben vermag.

Langzeitversuch I

In diesem Versuch erhielten sechs Kaninchen als Nahrung Heu von Weiden eines von der Kalzinose betroffenen Betriebes aus dem Allgäu. Drei dieser Tiere wurden einer täglichen Bestrahlung mit einer künstlichen UV-Quelle ausgesetzt.

Dieses Experiment barg insofern Unsicherheitsfaktoren, als der Goldhaferanteil des Heus und der Schnittzeitpunkt nicht bekannt waren. Leider stand seinerzeit kein anderes Material zur Verfügung. Der Aussagewert dieses Versuches wurde daher von vornherein stark eingeschränkt.

Während der Versuchsdauer von 81 Tagen waren die Kaninchen in einem trockenen Kellerraum untergebracht. Das nach Osten zeigende und unter der Erdoberfläche liegende Fenster öffnete sich in einen Lichtschacht, der durch ein Gitter abgedeckt war. Direktes Sonnenlicht konnte nicht in den Raum eindringen, daher herrschte ein fahles Dämmerlicht. Die Raumtemperatur lag bei durchschnittlich 13°C (11 1/2 bis 14 1/2 °C). Die Tiere selbst

lebten in Einzelkäfigen von 70 x 40 cm Grundfläche und 40 cm Höhe auf einem Gitterboden mit 1 cm² Maschenweite. Der Boden unter der Heuraufe an der Stirnseite des Käfigs war mit einem 30 cm breiten Blech abgedeckt um Streuverluste zu vermeiden.

Vor Versuchsbeginn bekamen die 6 unter der Fütterungskontrolle stehenden Kaninchen über sieben Wochen ein goldhaferfreies Heu und etwas Hafer. Zwei weitere, nur zwei Monate alte Kaninchen wurden kurz vor Versuchsbeginn zugekauft und dienten lediglich als Kontrolltiere für die pathologisch-anatomische Untersuchung. Sie wurden mit dem goldhaferfreien Heu weitergefüttert.

Die ersten sechs Kaninchen erhielten vom 8.2. bis zum 21.4. 1974, also über 74 Tage, das Heu des von der Kalzinose betroffenen Betriebes M aus dem Allgäu. Dieses Heu enthielt, wie schon erwähnt, einen nicht näher bestimmten Anteil an Goldhafer, neben anderen Gräsern und Kräutern. Pro kg Trockensubstanz waren 7,78 g Kalzium und 3,47 g Phosphor enthalten (Ca:P=2,24). Dieses Heu wurde morgens und abends eingewogen und wurde nahezu vollständig verzehrt; übriggebliebene Heureste wurden zurückgewogen. Vom 22.4. bis zum 29.4. erhielten diese Tiere dann wieder goldhaferfreies Heu zur freien Aufnahme. Entsprechend den vorangegangenen Kaninchenversuchen (vgl. DIRKSEN et al., 1972 und 1973) wurde jedem Tier täglich 30 g Hafer gereicht. Frisches Trinkwasser stand zur freien Aufnahme zur Verfügung.

Diese sechs Kaninchen wurden in zwei Gruppen geteilt, wovon die eine vom 11.2. bis zum 28.4. täglich einer künstlichen Bestrahlung mit der Original Hanau Höhensonne HA-FI 200 ausgesetzt wurde. Diese Höhensonne war in einem lichtdicht abgetrennten Nebenraum unter der Decke hängend mit nach unten gerichteten Reflektor untergebracht. Die zu bestrahlenden drei Kaninchen wurden in einen mit Drahtgitter abgeteilten fahrbaren Käfig gesetzt und unter die Höhensonne gefahren. Der Abstand vom Rücken der Kaninchen bis zur Quarzlampe betrug 50 cm. Bezogen auf die Strahlungsdosis des UV-B von 11 Watt h/m², was der mittleren Tagessumme der UV-B-Strahlung im Juni entspricht (SCHULZE, 1970), ergaben sich nach den Angaben der Herstellerfirma folgende Bestrahlungszeiten unter Berücksichtigung der UV-C-Emission bei 50 cm Abstand:

●	Filter geschlossen	ca. 8,5 Std.
◐	Filterstellung 4	ca. 5 Std.
○	Filter geöffnet	ca. 1 Std.

Synchron mit der UV-Strahlung emittieren bei der Höhensonne HA-FI 200 zwei Infrarotröhren ihre Wärmestrahlung. Bei Personen ohne Strahlungsgewöhnung wird bei geschlossenem Filter die Erythemschwelle nach ca. 20 - 25 Minuten und bei geöffnetem Filter nach ca. 4 - 5 Minuten erreicht.

Nach 12-tägiger, jeweils 10 Minuten dauernder Bestrahlung bei geschlossenem Filter zur Gewöhnung der Kaninchen, wurde auf die Bestrahlung mit offenem Filter übergegangen. Wie aus

der graphischen Darstellung (Abb. 2) ersichtlich ist, stieg die tägliche Bestrahlungszeit an den folgenden 63 Tagen stetig an. In der Gewöhnungsphase wurde eine Bestrahlungsdauer von 2 Stunden und 12 Minuten erreicht, während bei offenem Filter die Kaninchen einer insgesamt 30-stündigen Bestrahlung ausgesetzt waren. Die Gesamtdauer der UV-B- und der UV-C-Bestrahlung würde also einer natürlichen UV-B-Bestrahlung bei 30-tägigem Weidegang im Juni entsprochen haben. Allerdings mußte hier die gleichzeitige Wärmebelastung durch die Infrarotstrahlung unberücksichtigt bleiben, die während eines Sonnentages sehr viel höher ist, als während der Dauer einer Bestrahlung. An den Tagen der wöchentlichen Blutentnahme erfolgte die Bestrahlung nach der Blutentnahme.

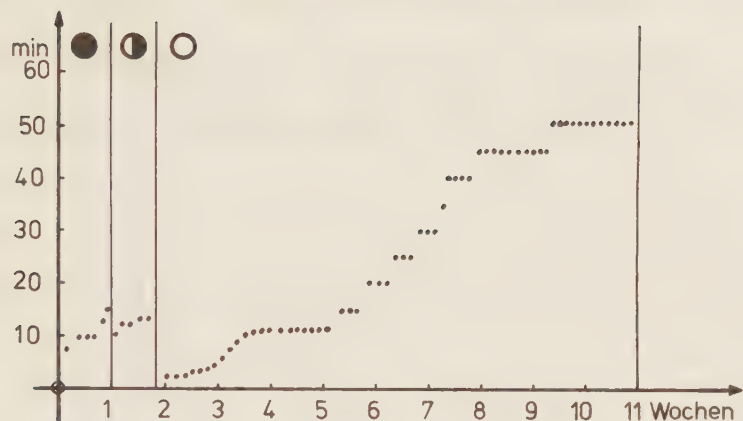


Abb. 2: Langzeitversuch I

Dauer der täglichen UV-Bestrahlung (•) im Versuchsablauf
bei verschiedenen Filterstellungen:

- geschlossen
- ◐ halb geöffnet
- ganz geöffnet

Ergebnisse

Während der Bestrahlungen hatten die Kaninchen meistens ihre Ohren angelegt und verhielten sich ruhig. Nach einigen Bestrahlungen konnte eine zunehmende braune Pigmentierung der Haut der gesamten Ohrmuschelaußenseite beobachtet werden, während die übrige Haut unter der sehr dichten, ca. 2 - 4 cm langen Behaarung unpigmentiert blieb. Die gesamte Haut der unbestrahlten Kaninchen blieb unpigmentiert. Bei allen Kaninchen war während des Versuchs das Wohlbefinden nicht beeinträchtigt. Auch nach den relativ langen Bestrahlungen konnten keine Anzeichen einer Reizung (Konjunktivitis) festgestellt werden. Die Bestrahlung bewirkte jedoch eine deutliche Hyperämie der Ohrvenen.

Innerhalb des 81-tägigen Versuchszeitraumes nahmen vier Kaninchen geringfügig an Gewicht zu, zwei Tiere nahmen etwas ab. Das Durchschnittsgewicht der bestrahlten Gruppe bewegte sich zwischen 2653 und 3140 g, das der unbestrahlten Gruppe zwischen 3021 und 3456 g. Der Unterschied des Durchschnittsgewichts zwischen der unbestrahlten und bestrahlten Gruppe verringerte sich von anfangs 498 g im Verlauf des Versuchs auf 248 g.

Der wöchentliche Verzehr eines Kaninchens an goldhaferhaltigem Heu bewegte sich bei der unbestrahlten Gruppe durchschnittlich zwischen 863 und 1443 g und lag damit in sieben von zehn Versuchswochen mit 110 bis 277 g deutlich über den Durchschnittswerten der bestrahlten Gruppe mit 763 bis 1380 g. Die bestrahlte

Gruppe überstieg nur in drei von zehn Versuchswochen mit 18 bis 67 g geringfügig den jeweiligen Wert der unbestrahlten Gruppe.

Die wöchentlich durchgeführten Blutuntersuchungen erbrachten folgende Ergebnisse (Abb. 3):

K a l z i u m: Die durchschnittlichen Kalziumwerte lagen bei der bestrahlten Gruppe zwischen 10,5 und 13,4 mg/100 ml, bei der unbestrahlten Gruppe zwischen 10,8 und 13,2 mg/100 ml. Nach Beginn des Versuchs konnten bei beiden Gruppen Werte von 11 mg/100 ml beobachtet werden; zum letzten Drittel des Versuchs hin stiegen die Werte an und schwankten nun zwischen 12 und 13 mg/100 ml. Eine Woche nach Absetzen der goldhaferhaltigen Heufütterung fielen die Kalziumwerte bei der Gruppen ab, die der unbestrahlten Gruppe jedoch sehr viel stärker (von 13,2 auf 10,9 mg/100 ml), als die der bestrahlten Gruppe (von 12,7 auf 12,2 mg/100 ml).

P h o s p h o r: Die Konzentrationen des anorganischen Phosphors im Plasma waren in 12 von 13 Untersuchungen bei der bestrahlten Gruppe um ein geringes höher als bei den unbestrahlten Tieren. Im Verlauf des Versuchs stiegen bei beiden Gruppen die anorganischen Phosphorwerte im Plasma leicht an: Bei der bestrahlten Gruppe von 3,83 mg/100 ml auf 4,8 mg/100 ml, bei der anderen Gruppe von 3,4 mg/100 ml auf 4,33 mg/100 ml. In der vierten Versuchswoche verzehrten die Kaninchen insgesamt weniger Heu als in den übrigen Wochen. Die

Blutuntersuchung am Ende dieser Woche erbrachte niedrigere Phosphorwerte als vorher. Nach Absetzen des Versuchsheues sanken bei beiden Gruppen innerhalb einer Woche die Werte von 3,9 bzw. 3,5 auf 3,01 bzw. 2,90 mg/100 ml ab.

A l k a l i s c h e P h o s p h a t a s e: Die Aktivität der alkalischen Phosphatase bewegte sich in beiden Gruppen zwischen Werten von 20 mU/ml. Während des Versuchs waren die Aktivitätswerte innerhalb des angegebenen Bereichs einigen Schwankungen unterworfen.

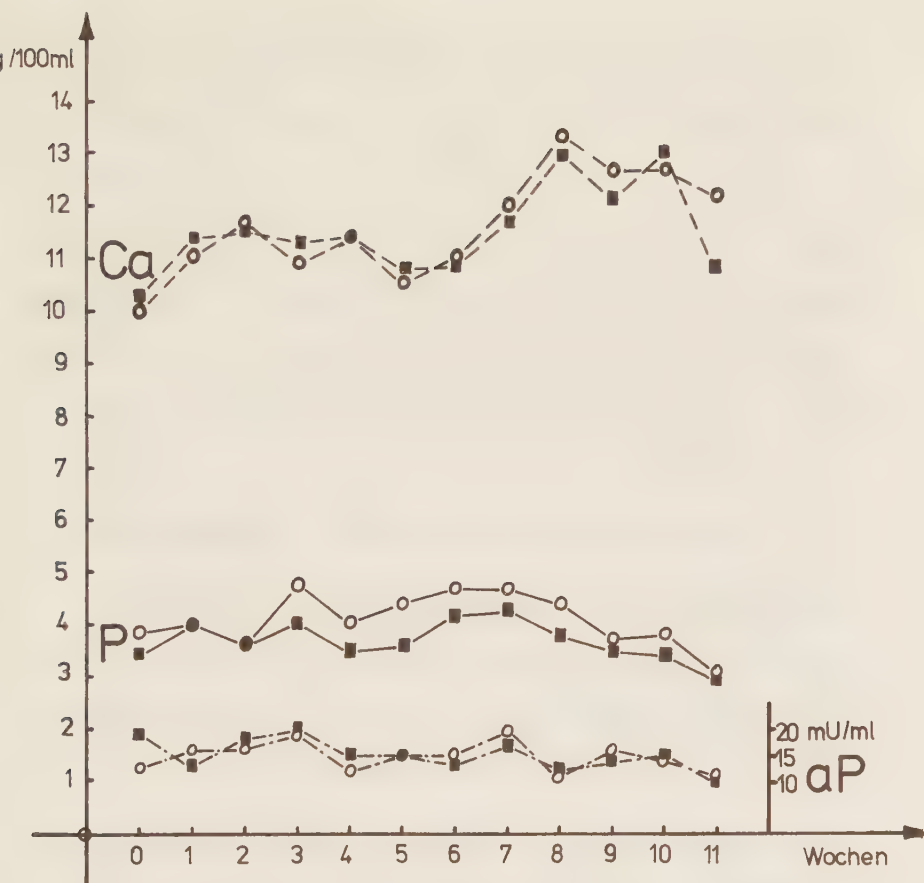


Abb. 3: Langzeitversuch I

Mittelwerte der Plasmaparameter Kalzium (Ca), anorganischer Phosphor (P), alkalische Phosphatase (aP) der drei UV-bestrahlten (O) und der drei unbestrahlten (■) Kaninchen.

Der Ernährungszustand war bei der Sektion am 29.4.1974 bei sechs Kaninchen mit mäßig und bei zwei Tieren der unbestrahlten Gruppe mit gut zu beurteilen. Bei einem Kaninchen der unbestrahlten Gruppe, sowie bei einem Kontrolltier konnten im Arcus aorticus kleine weiße Herde festgestellt werden. Histologisch konnte in diesen Herden keine Verkalkung nachgewiesen werden. Bei einem Kontrolltier bestand eine mikroskopisch sichtbare subintimale Mediaverquellung, eine Faserfraktur und eine zellige Infiltration in der Gefäßwand, jedoch keine Verkalkung.

Bei sämtlichen Kaninchen des Versuchs, insbesondere den Kontrolltieren, konnten bei der histologischen Untersuchung Verkalkungen der Trachealringe festgestellt werden. Mediahyperplasien der Lungengefäße traten bei allen drei Kaninchen der bestrahlten Gruppe, sowie bei zwei der drei unbestrahlten Tiere und bei einem der beiden Kontrolltiere auf.

Die übrigen Organe der aller Kaninchen waren frei von Verkalkungen.

Langzeitversuch II

Mit diesem Versuch sollte am Kaninchen geprüft werden, ob die kalzinogene Wirkung des Goldhafers von der Sonnenbestrahlung des Tieres abhängig ist, oder dadurch verstärkt wird.

Vor Beginn des Experimentes wurden die zwölf dafür vorgesehenen Kaninchen im gleichen Kellerraum, wie im Versuch I beschrieben, in Einzelkäfigen gehalten. Während dieses sechswöchigen Aufenthalts vom 5. April bis 16. Mai 1974 wurden diese Kaninchen mit goldhaferfreiem Wiesengras an den ausschließlichen Verzehr von frischem Grünfutter gewöhnt. Zudem erhielt jedes Tier pro Tag 60 g Hafer und Wasser zur freien Aufnahme. An zweien dieser Kaninchen, die als Stichprobe am 8. Mai geschlachtet wurden, konnten makroskopisch keine Verkalkungen der Gefäße festgestellt werden. Lediglich auf mikroskopischem Wege wurden in den Lungengefäßen Mediahyperplasien gefunden.

Der eigentliche Versuch wurde vom 16. Mai bis zum 30. Oktober 1974 auf dem Versuchsfeld des Instituts für Grünlandwirtschaft und Futterbau der Justus Liebig Universität Gießen (Vorstand: Prof. Dr. U. Simon) folgendermaßen durchgeführt:

Eine Gruppe A, aus vier Kaninchen bestehend, wurde in geräumigen Einzelkäfigen mit einer Grundfläche von 80 x 60 cm in einem abgedunkelten Stall untergebracht. Ein Kaninchen wurde am 118. Tag, die übrigen drei Tiere nach Versuchsende am 171. Tag getötet.

Die Gruppe B bestand aus vier Kaninchen, von denen eines am 118. Versuchstag, die drei anderen am 171. Tag getötet wurden. Die Kontrollgruppe C bildeten zwei Kaninchen, von

denen eines am 38. Versuchstag starb. Das andere, und ein später als Ergänzung eingestelltes Kaninchen kamen am 171. Tag zur Sektion.

Die Gruppen B und C wurden in eigens dafür hergestellten Käfigen im Freien gehalten. Diese Einzelkäfige hatten eine Grundfläche von 80 x 80 cm und waren 70 cm hoch. Der Abstand des Gitterbodens (Maschenweite 1 cm²) zum Erdboden betrug 60 cm. An der Nordseite befand sich eine Futterraufe aus Blech, unterhalb welcher im Käfig ein Bodenblech mit umlaufendem Rand angebracht war, um Futterstreuverluste zu vermeiden. Neben der Futterraufe hatte der Käfig eine wind- und wettergeschützte Käfigausbuchtung für den Aufenthalt der Kaninchen während der Nacht. Sechs dieser Käfige standen in Reihe von West nach Ost nebeneinander auf freier Wiese. Die gesamte Käfiganordnung war gegen Regen durch ein herunterklappbares Dach geschützt. Die Dachstellung konnte stufenlos so reguliert werden, daß je nach Sonnenstand der gesamte Käfigboden stets dem direkten Sonnenlicht ausgesetzt war und das gereichte Frischfutter trotzdem immer im Schatten blieb.

Auf dem Versuchsfeld standen zwei Parzellen mit Goldhafermonokultur der Sorte Triset 51 zur Verfügung. Durch die Verabreichung des Grünfutters dieser Parzellen an Schafe konnten im Jahr zuvor bei den Versuchstieren hochgradige Verkalkungen der Aorta erzeugt werden (DIRKSEN et al., 1974). Die Fütterung des jeweils frisch geernteten Goldhafers erfolgte morgens und

abends an die Tiere der Gruppe A und B. Den Tieren wurde das Futter eingewogen, übriggebliebene Futterreste wurden zurückgewogen. Sowohl von der Einwaage, als auch von der Rückwaage - getrennt nach Gruppe A und B - wurden je 100 g genommen, in einem Trockenschrank bei 65 °C völlig getrocknet, der Trockensubstanzgehalt des Ausgangsmaterials errechnet und daraus der gesamte Verzehr an Trockensubstanz bestimmt.

Gruppe C erhielt von einer Nachbarparzelle Knaulgras (Sorte Oberweihst), das im Vorjahr bei der Verfütterung an Schafe keine Verkalkungen verursachte. Es wurde darauf geachtet, daß das angebotene Knaulgras dem Wachstumsstadium des Goldhafers entsprach und auch in entsprechenden Mengen den beiden Tieren zum Verzehr angeboten wurde.

Entsprechend den früheren Versuchen an Kaninchen erhielt jedes Tier 30 g Hafer pro Tag. Frisches Trinkwasser stand zur freien Aufnahme zur Verfügung.

Im Verlauf des 171-tägigen Versuchs konnten insgesamt 102 Sonnentage verzeichnet werden. Über die wöchentliche Verteilung der Sonnentage gibt Abbildung 4 Auskunft.

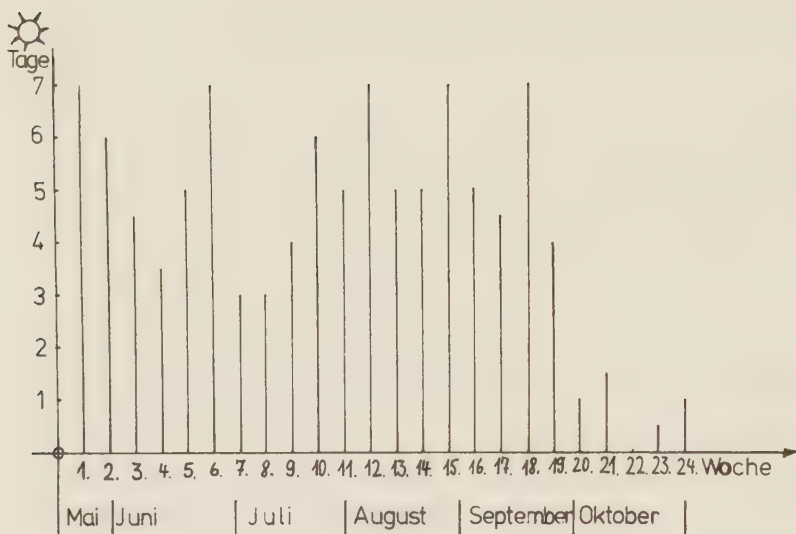


Abb. 4: Langzeitversuch II, Zahl der wöchentlichen Sonnentage während der Versuchsdauer.

Im Monat Mai herrschte überwiegend sonniges Wetter mit Temperaturen bis 25 °C, gemessen im Schatten der im Freien stehenden Käfiganordnung. Anfang Juni war der Himmel häufig bedeckt, das Wetter kühl und windig bis auf die Sonnentage, die gegen Ende Juni an Zahl zunahmen. Mit längerer Sonnenscheindauer war auch die Tagestemperatur höher. Schon morgens legten sich die Kaninchen in die erste Sonne, doch bedeutete für sie die pralle Sonne, der sie tagsüber ausgesetzt waren, eine ziemliche Wärmebelastung. Die Atmung war sehr frequent, die Hinterläufe wurden oft lang ausgestreckt, die Ohren aufgerichtet und die Ohrvenen erschienen zeitweise stark hyperämisiert. Zum Grünfutter wurde häufig Wasser getrunken. Bei bedecktem Himmel war es den Tieren offensichtlich am behaglichsten. Am 38. Versuchstag, einem sehr heißen Junitag, strangulierte sich das Kontrolltier Nr. 4 ♂ in einer Masche des Käfiggitters zu Tode. Der Monat Juli war insgesamt kühler, oft regnerisch und bedeckt mit kühleren Sonnentagen. Der August hingegen war sonnig, warm bis heiß (bis 28 °C) mit nur wenigen Regentagen. Zum September hin waren die Nächte kühler und es dauerte oft bis 10 Uhr, bis der schon herbstliche Nebel der Sonne gewichen war. Der September selbst war anfangs regnerisch, windig und daher an Sonnentagen auch kühl. Im Oktober schien nur an 4 Tagen die Sonne, es war überwiegend bedeckt, regnerisch, windig und kalt.

Für die mit Goldhafer gefütterten Gruppen A und B gelten die nachfolgend gemachten Angaben in gleicher Weise.

Am Anfang des Versuchs wurde Goldhafer von derselben Parzelle geerntet, die im Vorjahr (1973) als Weide für die Versuchsschafe diente. Zu Beginn der Fütterung befand sich der Goldhafer im Rispenschieben, teilweise auch schon in Blüte. Eine 1973 eingesäte zweite Parzelle war Anfang Juni ebenfalls im Rispenschieben; am 10. Juni war die Rispe geschoben und kurz darauf stand das Feld in Blüte. Die Halme waren gut 70 cm hoch. Im Verlauf des sehr sonnigen Juni alterten die Pflanzen zusehends, was mit einer stärkeren Verholzung der Stengel einherging. Von den eingewogenen Futtermengen wurden etwa 2/3 zurückgelassen. Während die Kaninchen anfangs die noch grünen weichen Blütenrispen verzehrten, wurden die ausgereiften Blüten und auch die harten holzigen Stengelteile verschmäht und zurückgelassen. Lediglich die noch guten grünen Blätter und die noch weicheren Stengel wurden verzehrt. Insgesamt blieb in dieser ersten Zeit die absolut verzehrte Futtermenge an Grünfutter in etwa erhalten, doch nahmen die Tiere bei relativ steigendem Trockensubstanzgehalt dieses Futters absolut mehr Trockensubstanz auf. Die Gewichtsentwicklung hatte während dieser Zeit des qualitativ schlechteren Futters eine rückläufige Tendenz.

Am 27. Juni konnte neu aufgewachsener junger Goldhafer der erstgenannten Parzelle verfüttert werden. Dieses qualitativ gute Futter, das vor allem aus weichen grünen Stengeln und Blättern bestand, wurde nahezu vollständig verzehrt; die Aufnahme betrug pro Tier und Tag durchschnittlich zwischen 550 und 750 g Frischsubstanz, bei einem Trockensubstanzgehalt zwischen 17 und 23 %. Der Verzehr an Trockensubstanz pro Woche

schwankte bei diesem jungen Futter zwischen 610 und 1200 g pro Tier und lag unter den im Juni erreichten Verzehrsmengen. Unter dieser Fütterung nahm das Körpergewicht der Tiere wieder um durchschnittlich 50 g pro Woche zu.

Am 17. Juli konnte wieder nachgewachsenes Futter der zweiten Parzelle verfüttert werden. Am 1. August begann der 3. Schnitt der ersten Parzelle. Der zweite Aufwuchs blieb hinsichtlich des Ertrages weit hinter dem des ersten Aufwuchses zurück, zum Teil bedingt durch das trockene und warme Wetter im Juni. Zur Sicherstellung der Grünfuttermittelsversorgung mußte jeweils eine größere Fläche an Goldhafer gemäht werden, so daß spätestens nach vier Wochen mit einem neuen Schnitt begonnen werden mußte. Der Aufwuchs erreichte nur vereinzelt ein Blütenstadium und bestand zum größten Teil aus grünen Stengeln und Blättern. Am 17. August folgte die zweite Parzelle mit dem 3. Schnitt. Ab dem 3. Schnitt ließ auch die Struktur des Goldhafers nach. Während er im Mai und Juni kräftige Blätter und Stengel entwickelte, waren es gegen Ende August weiche und kürzere Blätter und Stengel. Am 12. September konnte die erste Parzelle zum 4. Mal geschnitten werden. Der Aufwuchs nach dem 3. Schnitt erreichte kaum mehr als 15 cm Höhe. Mit dem Einsetzen des feuchten und kalten Wetters verschlechterte sich die Futtersituation, da vermehrt abgestorbene Pflanzenteile auftraten, die mit dem Mähen ins frische Futter gelangten. Mit dem teilweisen Verzehr dieser abgestorbenen trockenen Futterteile kann die Erhöhung der Trockensubstanzaufnahme Anfang September erklärt werden. Infolge der anhaltenden Regenfälle im Oktober war das zu dieser Zeit geerntete Futter häufig etwas muffig, worauf auch der

Verzehr ziemlich zurückging. Drei Tage vor Versuchsende konnte noch einmal relativ frischer Goldhafer einer im Sommer 1974 angesäten Goldhafermonokultur den Tieren angeboten werden, den sie mit einigem Appetit verzehrten; dies drückte sich auch in einer Zunahme der aufgenommenen Grünfuttermenge aus.

Für das am 22. Juni verstorbene Kontrolltier Nr. 4 ♂ wurde am 15. Juli ein 3 Monate altes männliches Kaninchen der gleichen Mischrasse eingestellt. Für die beiden Kontrolltiere konnte für die Dauer des gesamten Versuchs qualitativ gutes Knaulgras (*Dactylis glomerata*) bereitgestellt werden. Während der sehr heißen Tage im Juni nahmen beide Tiere an Gewicht etwas ab. Bei einer täglichen Knaulgrasfütterung von 1000 g Frischsubstanz nahm das Kontrolltier Nr. 9 durchschnittlich um 21 g pro Woche an Gewicht zu. Das Futter bestand meist nur aus Blättern des in dichten Horsten wachsenden Knaulgrases.

Mit Ausnahme der an den heißen Tagen ziemlich großen Wärmebelastung der im Freien gehaltenen Kaninchen war das Allgemeinbefinden aller Kaninchen nicht beeinträchtigt.

Ergebnisse

Die im Freien gehaltenen Kaninchen der Gruppen B und C hatten wie die bestrahlten Tiere des Langzeitversuchs I eine braun pigmentierte Haut auf der Ohrmuschelaußenseite, während die übrige Haut und die der im Stall gehaltenen Gruppe A unpigmentiert blieb.

Von Versuchsbeginn bis Ende Juni nahmen die im Freien gehaltenen Kaninchen (B, C) um 200 g ab, die Tiere im Stall (A) behielten ihr Gewicht. Insgesamt gesehen nahm die Gruppe A innerhalb der 24 Versuchswochen bei einem Ausgangsgewicht von 2950 g um 15 g pro Woche zu, Gruppe B von 2700 g ausgehend um 18,7 g. Das Kontrolltier Nr. 9 nahm bei Knaulgrasfütterung von 3040 g um 21 g pro Woche zu. Das später eingestellte Kontrolltier 4 ♂ nahm von Mitte Juli bis Versuchsende von 2480 g um 71 g pro Woche zu.

Hinsichtlich des Goldhaferverzehrns bestand zwischen der Gruppe A und B kein signifikanter Unterschied. Der Mittelwert und die Standardabweichung betragen für die Gruppe A $988 \text{ g} \pm 226$, für Gruppe B $978 \text{ g} \pm 249$ Trockensubstanz pro Woche.

Die wöchentlichen Blutplasmauntersuchungen erbrachten folgendes Ergebnis (vgl. Abbildung 5):

K a l z i u m: Die Unterschiede zwischen den beiden mit Goldhafer gefütterten Gruppen A und B waren nicht signifikant. Der Mittelwert lag in Gruppe A bei $13,2 \pm 0,77 \text{ mg/100 ml}$, in Gruppe B bei $13,3 \pm 0,75 \text{ mg/100 ml}$. Vom gemeinsamen Ausgangswert von $13,3 \pm 0,3 \text{ mg/100 ml}$ vor Versuchsbeginn fielen im Juni die Werte bei allen 3 Gruppen leicht ab, bei Gruppe A auf $12,0 \text{ mg/100 ml}$, auf $12,9 \text{ mg/100 ml}$ bei Gruppe B und auf $12,2 \text{ mg/100 ml}$ bei der Kontrollgruppe C. Mit der Fütterung von neu aufgewachsenem jungem Goldhafer stiegen die Werte der Gruppen A und B auf teilweise $14,5 \text{ mg/100 ml}$ an, während die

Kalziumwerte des Kontrolltieres Nr. 9 zwischen 12,0 und 13,0 mg/100 ml Plasma schwankten. Zwischen den Mittelwerten der goldhafergefügterten Tiere und denen des mit Knaulgras gefügterten Tieres bestand ein Unterschied von durchschnittlich 1,0 mg/100 ml (0,1 bis 2,0 mg/100 ml) zugunsten der beiden Goldhafergruppen. Im September pendelten die Kalziumwerte der Gruppen A und B wieder auf das Niveau von 13,0 mg/100 ml zurück.

P h o s p h o r: Zwischen den Werten der Gruppen A und B bestand über die Gesamtdauer des Versuchs hinweg ein signifikanter Unterschied ($p < 0,01$) von 0,5 mg/100 ml. Die im Stall gehaltene Gruppe A hatte einen Mittelwert mit Standardabweichung von 5,3 mg/100 ml $\pm 1,1$, die im Freien gehaltene Gruppe B einen solchen von 4,86 mg/100 ml $\pm 1,18$. Der gemeinsame Mittelwert der beiden Goldhafergruppen A und B betrug 5,08 mg/100 ml $\pm 1,16$ gegenüber dem Mittelwert von 3,70 mg/100 ml des mit Knaulgras gefügterten Kontrollkaninchens Nr. 9.

Zu Beginn der Fütterungsperiode mit Goldhafer konnte bei beiden Gruppen (A und B) nach zwei Wochen ein leichter Anstieg um 0,7 mg/100 ml, bei manchen Tieren ein stärkerer von 1,3 mg/100 ml gesehen werden. Innerhalb der nächsten fünf Wochen fielen (im Juni) die Werte für den anorganischen Phosphor im Plasma bei allen drei Gruppen A, B und C auf 3,9 mg/100 ml ab.

Nach der Gabe von jungem, neu aufgewachsenem Goldhafer war nach einer Woche ein sehr deutlicher Anstieg - um durchschnitt-

lich 2 mg/100 ml - bei Gruppe A und B zu sehen, während das knaulgrasgefütterte Kontrolltier Nr. 9 weiterhin auf seinem niedrigen Niveau blieb. Bis Ende September behielten die goldhafergefütterten Tiere diese erhöhten Phosphorspiegel bei. Anfang Oktober sanken die Werte auf unter 5 mg/100 ml ab, gegen Ende dann unter 3 mg/100 ml. Drei Tage vor Versuchsende konnte wieder junger Goldhafer gegeben werden, was sich in einem erneuten Ansteigen der Phosphorkonzentration bemerkbar machte.

A l k a l i s c h e P h o s p h a t a s e: Die Werte zwischen den beiden Gruppen A und B unterschieden sich nicht signifikant. Die Aktivität dieses Enzyms nahm während des 24-wöchigen Versuchs ab ($p < 0,01$). Die mittleren Werte und die Standardabweichungen betrugen für Gruppe A $14,4 \text{ mU/ml} \pm 7,5$, für Gruppe B $12,7 \text{ mU/ml} \pm 6,7$, beim Kontrolltier Nr. 9 betrug der Mittelwert $14,4 \text{ mU/ml}$.

Zur Beschreibung der Ergebnisse konnte für die Kontrollgruppe C nur das Kaninchen Nr. 9 herangezogen werden. Die Parameter für Körpergewicht, sowie für die Blutspiegel des anorganischen Phosphors und der Aktivität der alkalischen Phosphatase sind bei diesem Langzeitversuch vom Alter der Tiere abhängig ($p < 0,01$). Daher mußte bei diesem Versuch das viel jüngere Kontrolltier Nr. 4 ♂ unberücksichtigt bleiben, weil die Voraussetzungen für eine Vergleichbarkeit mit den übrigen Tieren nicht gegeben waren.

Pathologisch - anatomische Untersuchung: Nach 171 tägiger Versuchsdauer wurden alle Kaninchen einer pathologisch-anatomischen Untersuchung unterzogen. Bei allen Kaninchen bestand ein normaler Ernährungszustand mit Ausnahme eines Tieres der Gruppe B, das ein erheblich reduziertes Körpergewicht aufwies. Hinsichtlich des Vorkommens von Verkalkungen nach Ablauf des Versuchs konnten makroskopisch folgende Befunde erhoben werden: Die drei Kontrollkaninchen Nr. 4 ♀, Nr. 4 ♂ und Nr. 9 ♂ der Gruppe C waren frei von Verkalkungen in den Weichgeweben.

Zwei der vier im Stall gehaltenen Kaninchen der Gruppe A hatten im Aortenbogen deutlich sichtbare Verkalkungen in Form von flachen weißen Erhabenheiten in der Ausdehnung von 2 mm². Bei einem weiteren Tier war der Verdacht einer Verkalkung im Aortenbogen durch ein weißes Fleckchen der gleichen Ausdehnung gegeben. Das vierte, am 118. Versuchstag getötete Kaninchen war makroskopisch frei von Verkalkungen.

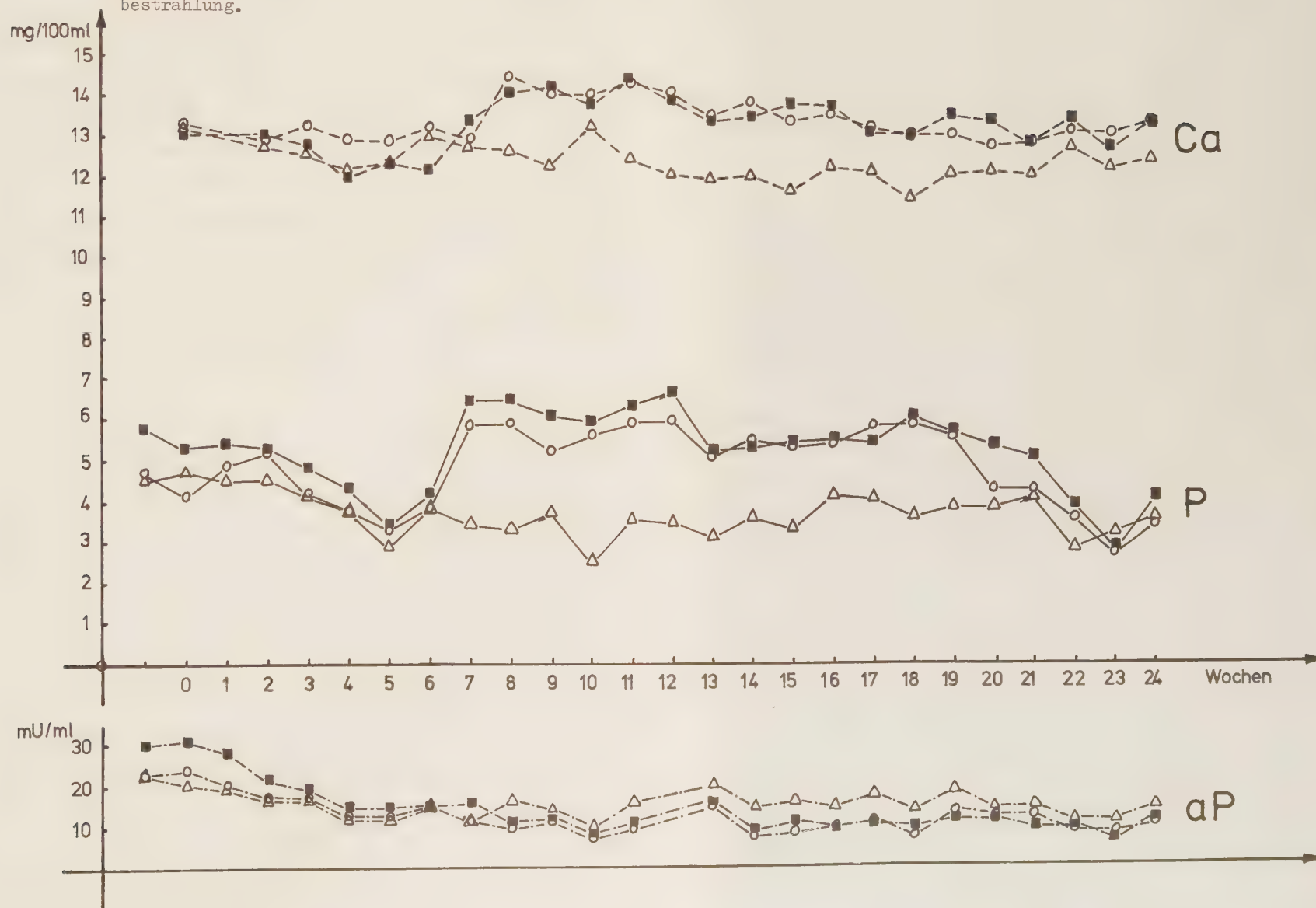
Von den vier an der Sonne gehaltenen Tieren der Gruppe B zeigten nur zwei den Verdacht einer Verkalkung des Aortenbogens in der oben beschriebenen Form. Die beiden anderen Kaninchen zeigten makroskopisch keine Veränderungen.

Im histologischen Bild (Untersuchungsergebnisse des Institutes für Tierpathologie der Universität München, Lehrstuhl für Allgemeine Pathologie und Pathologische Anatomie; Vorstand: Prof. Dr. J. von Sandersleben) waren die Kontrollkaninchen frei

Abb. 5: Langzeitversuch II

Mittelwerte der Plasmaparameter Kalzium (Ca), anorganischer Phosphor (P), alkalische Phosphatase (aP) der vier sonnenbestrahlten (○) und der vier im Dunkelstall gehaltenen (■) Kaninchen mit Goldhaferfütterung.

Kontrolltier Nr. 9 (△), Knaulgrasfütterung und Sonnenbestrahlung.



von Gefäßverkalkungen. Von den beiden am 118. Versuchstag geschlachteten Kaninchen war das der Gruppe B frei von Verkalkungen, das der Gruppe A hatte lediglich Faserdestruktionen im Bereich der Media des Aortenbogens. Von den sechs nach 171 Tagen getöteten Tieren zeigten alle drei Tiere der Gruppe A und zwei Tiere der Gruppe B Verkalkungen in der Nierenrinde. In Gruppe A konnten bei zwei Tieren die Verkalkungen im Aortenbogen histologisch bestätigt werden. Bei einem dieser Tiere konnten zusätzlich Faserdestruktionen der Aorta thoracica nachgewiesen werden. Das dritte Tier besaß lediglich Faserdestruktionen im Aortenbogen. Bei Gruppe B konnten bei zwei Tieren nur Faserdestruktionen nachgewiesen werden, während ein Tier nach 171 Tagen völlig frei von Verkalkungen war.

Zusammenfassend kann gesagt werden, daß fünf von sechs Tieren der Gruppen A und B, die jeweils mehr als 22 kg Goldhafer (Trockensubstanz) während der 171 Tage verzehrt hatten, Verkalkungen in der Niere aufwiesen. Bei zwei Tieren der im Freien gehaltenen Gruppe B traten Faserdestruktionen der Aortenmedia auf. Ein Tier der Gruppe B war völlig frei von Verkalkungen. Dagegen zeigten zwei Tiere der im Stall gehaltenen Gruppe A Faserdestruktionen der Media des Aortenbogens, bei den beiden anderen Kaninchen der Gruppe A waren Verkalkungen im Aortenbogen nachweisbar. Die drei Kontrolltiere waren völlig frei von Verkalkungen. Einen Überblick gibt die Abbildung 6.

Gruppe	Kaninchen Nr. Sexus	Makrobef. Aorta	Mikrobef. Arcus aortae	Aorta thor.	Aorta abd.	Arteria carotica	Lunge	Niere	Versuchs- dauer (Tage)	Goldhafer- verzehr (kg TS)
A Goldhafer Stall	3 ♂	V	*	—	—	—	—	+	171	22,17
	5 ♂	+	+	*	—	—	—	+	171	24,87
	11 ♀	+	+	—	—	—	—	+	171	23,08
	12 ♂	—	*	—	—	—	—	—	118	16,82
B Goldhafer Sonne	6 ♂	V	—	—	—	—	—	—	118	12,67
	7 ♂	—	—	—	—	—	—	—	171	22,53
	8 ♂	—	*	—	—	—	—	+	171	25,32
	10 ♀	V	*	—	—	—	—	+	171	25,61
C Knaulgras Sonne	4 ♀	—	—	—	—	—	—	—	38	—
	4 ♂	—	—	—	—	—	—	—	104	—
	9 ♂	—	—	—	—	—	—	—	171	—
Kontrolle vor Versuchs- beginn	1 ♀	—	—	—	—	—	M	—	—	—
	2 ♂	—	—	—	—	—	M	—	—	—

Abb. 6:

Langzeitversuch II

Übersicht über die pathologisch-anatomischen Befunde, sowie über Versuchsdauer und Goldhaferverzehr.

v = Verkalkungsverdacht (makrosk.) = Faserdestruktion (Beginnstadium)

+ = Verkalkung, - = frei von Verkalkungen, M = Mediaplasie

Betrachtet man insgesamt den Goldhaferverzehr, die Plasmaphosphorwerte und die gefundenen Verkalkungen der einzelnen Versuchskaninchen, so kann folgendes festgestellt werden:

Die meisten Kaninchen erreichten unter der Fütterung mit jungem Goldhafer Plasmaphosphorwerte von 5 mg/100 ml und darüber. Das Tier der Kontrollgruppe mit Knaulgrasfütterung lag dagegen stets unter dieser Grenze und erreichte nur in 6 von 24 wöchentlichen Untersuchungen Werte, die geringfügig 4 mg/100 ml überschritten. Aus diesem Grund wurde in der vorliegenden Arbeit die Grenze von 5 mg/100 ml zur Charakterisierung der Goldhaferwirkung gewählt.

Von den beiden vor Versuchsende am 118. Tag getöteten Kaninchen wies das Tier Nr. 6 (B) in 8 von 17 Wochen Phosphorwerte über 5 mg/100 ml auf, Kaninchen Nr. 12 (A) dagegen in 12 von 17 Wochen. Kaninchen Nr. 6 (B) hatte zudem einen deutlich geringeren Goldhaferverzehr (12,67 kg) als Kaninchen Nr. 12 (A) (16,82 kg). Schließlich fanden sich nur bei Kaninchen Nr. 12 (A) Faserdestruktionen in der Aortenwand, während bei Kaninchen Nr. 6 (B) keine Anzeichen einer beginnenden Verkalkung wahrgenommen werden konnten.

Bei den übrigen sechs nach Versuchsende am 171. Tag getöteten Kaninchen fiel auf, daß das Tier Nr. 7 (B) keine Verkalkungen zeigte. Mit einem Goldhaferverzehr von 22,5 kg lag es nur wenig unter der Verzehrsmenge der anderen Kaninchen, erreichte aber

nur in 6 von 24 Wochen einen Phosphorspiegel von 5 mg/100 ml. Mit einem annähernd gleichen Verzehr hielt dagegen Kaninchen Nr. 3 (A) über 16 von 24 Wochen den Phosphorspiegel über diesem Wert und zeigte Verkalkungen sowohl in der Niere als auch in der Aorta. Die übrigen vier Kaninchen mit einem Verzehr zwischen 23 und 25,5 kg Goldhafer hielten den Phosphorspiegel von 5 mg/100 ml über 14 bis 18 Wochen aufrecht. Bei Ihnen konnten ebenfalls in der Niere Verkalkungen nachgewiesen werden. Im Aortenbogen zeigten zwei dieser Tiere Verkalkungen, die anderen beiden nur Faserdestruktionen.

Oben genannte Ergebnisse sind in Abbildung 7 zusammengefaßt.

Kurzzeitversuch

Der Anlaß zu diesem Versuch war die im Langzeitversuch II gemachte Beobachtung, daß bei den mit jungem Goldhafer gefütterten Kaninchen innerhalb einer Woche ein Anstieg im Gehalt des anorganischen Phosphors im Plasma zu verzeichnen war. Das mit Knaulgras gefütterte Kontrollkaninchen zeigte solche Veränderungen nicht.

Die für diesen Versuch verwendeten vier gleichaltrigen und 3,16 kg schweren Kaninchen der Rasse "Deutsche Riesenschecke" waren in 80 x 60 cm großen und 60 cm hohen Einzelkäfigen mit Gitterrost in dem gleichen Kellerraum, wie bei Langzeitversuch I beschrieben, untergebracht. Die Raumtemperatur hielt sich über den Versuchszeitraum vom 19.8. bis 18.9.1974 relativ konstant auf 18 °C.

Gruppe	Kaninchen Nr.	Versuchs- dauer (in Wochen)	Goldhafer- verzehr (in kg TS)	Wochen mit P-Spiegel über 5 mg/100 ml	Verkalkungen + Faserdestruktion *	Aorta	Niere
A	3	24	22,17	16	*	+	
	5	24	24,87	14	+	+	
	11	24	23,08	15	+	+	
	12	17	16,82	12	*	—	
B	6	17	12,67	8	—	—	
	7	24	22,53	6	—	—	
	8	24	25,32	14	*	+	
	10	24	25,61	18	*	+	
C	9	24	—	0	—	—	

Abb. 7: Langzeitversuch II

Übersicht über den Plasmaphosphorspiegel im Vergleich zur Versuchsdauer, zum Goldhaferverzehr und zu den pathologisch-anatomischen Befunden.

Vor Versuchsbeginn bestand die Fütterung sechs Wochen lang aus goldhaferfreiem Heu und täglich 30 g Hafer pro Tier. Ab und zu bekamen die Tiere noch Mohrrüben. Frisches Trinkwasser stand zur freien Aufnahme zur Verfügung.

Die Blutentnahmen aus der Ohrrendvene erfolgten täglich gegen 10 Uhr jeweils vor der Fütterung. Zur Verfütterung kamen frischer Goldhafer im Wachstumsstadium vor dem Rispen-schieben und frisches Knaulgras, das nur aus Blättern bestand. Das jeweils frisch geerntete Futter wurde den Tieren morgens und abends eingewogen, die Reste der vorangegangenen Mahlzeit zurückgewogen und wie im Langzeitversuch II der Verzehr an Trockensubstanz bestimmt. Die Untersuchung der beiden verwendeten Grasarten ergab pro kg Trockensubstanz für Goldhafer einen Gehalt an Kalzium von 5,32 g und an Phosphor von 3,06 g (Ca:P = 1,73), für Knaulgras beliefen sich diese Werte auf 4,62 g und 3,73 g (Ca:P = 1,23).

Versuchsverlauf

Nach zweimaliger Blutentnahme erhielten die Kaninchen Nr. 14 und 15 frisches Knaulgras, die Kaninchen Nr. 16 und 17 frischen Goldhafer. Nach sechs Tagen wurde die Fütterung umgestellt, derart, daß die Kaninchen Nr. 14 und 15 frischen Goldhafer, die beiden anderen aber frisches Knaulgras bekamen. Nach weiteren sieben Tagen erfolgte die zweite Futterumstellung und wiederum nach neun Tagen die dritte. Auf diese Weise erhielt jedes Tier zweimal Knaulgras und zweimal Goldhafer. Zwei Tiere

dienten dabei jeweils als Kontrolltiere.

V Versuchsergebnisse

Der tägliche Verzehr in Trockensubstanz lag bei der Verfütterung von Goldhafer im Durchschnitt bei 153 g (106 bis 235 g), von Knaulgras bei 180 g (114 bis 254 g). Alle Tiere nahmen während des vierwöchigen Versuchs um durchschnittlich 220 g zu.

Die täglich durchgeführten Blutuntersuchungen brachten folgendes Ergebnis (vgl. Abbildung 8):

Nach der Futterumstellung von Heu auf Frischfutter konnte im Verlauf des Plasmaphosphorspiegels der goldhafergefütterten Kaninchen ein bemerkenswerter Anstieg festgestellt werden, während die Phosphorkonzentrationen der knaulgrasgefütterten Kaninchen auf dem Ausgangsniveau blieben. Nach dem Wechsel der Fütterung von Goldhafer auf Knaulgras ging die Phosphorkonzentration wieder auf das ursprüngliche Niveau und darunter zurück, während die von Knaulgras auf Goldhafer umgestellten Kaninchen in ähnlicher Weise mit einem Phosphoranstieg reagierten. Dieses Wechselspiel konnte an allen vier Kaninchen je zweimal wiederholt werden.

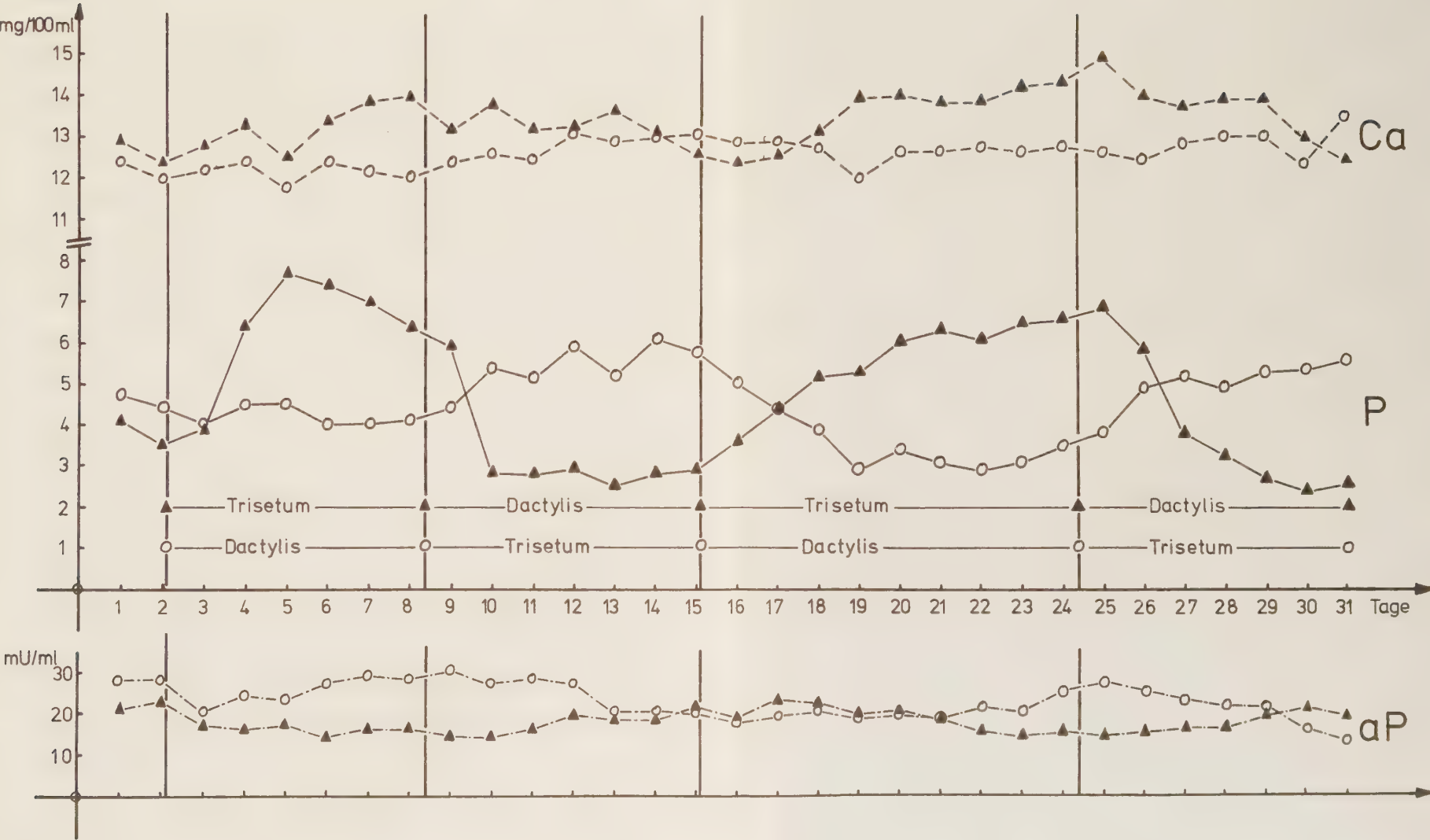
Im einzelnen konnten nach der Futterumstellung von goldhaferfreiem Heu auf Goldhafer und von Knaulgras auf Goldhafer folgende Veränderungen der drei untersuchten Blutplasmaparameter beobachtet werden:

K a l z i u m: Bei einem mittleren Ausgangswert von 12,6 mg/100 ml erhöhte sich der Kalziumspiegel bei allen Kaninchen innerhalb von vier bis fünf Tagen um durchschnittlich 1,2 mg/100 ml (0,4 bis 2,4 mg/100 ml) und kehrte nach Absetzen der Goldhaferfütterung in sechs bis sieben Tagen zum ursprünglichen Wert zurück.

P h o s p h o r: Ausgehend vom mittleren anorganischen Phosphorgehalt von 3,55 mg/100 ml war bei allen Kaninchen ein durchschnittlicher maximaler Anstieg um 2,56 mg/100 ml (1,4 - 4,2 mg/100 ml) zu ermitteln. Nach zwei Tagen war ein Anstieg um 1 mg/100 ml und nach zwei bis vier Tagen ein solcher von 2 mg/100 ml erreicht. Der Abfall zum Ausgangswert bei erneuter Knaulgrasfütterung erfolgte nach zwei bis drei Tagen.

A l k a l i s c h e P h o s p h a t a s e: Bei allen Tieren setzte nach Beginn der Goldhaferfütterung ein Abfall der Aktivität der alkalischen Phosphatase ein, von durchschnittlich 21,9 mU/ml um 7,5 mU/ml (3,4 - 12,0 mU/ml). Bei sechs- bis achttägiger Goldhaferfütterung war der Tiefstpunkt nach sieben Tagen erreicht. Während der Knaulgrasfütterung stieg die Aktivität der alkalischen Phosphatase in sechs bis neun Tagen wieder auf den Wert vor Beginn der Goldhaferfütterung an.

Abb. 8: Kurzzeitversuch
Plasmawerte für Kalzium (Ca), anorganischen Phosphor (P)
und alkalische Phosphatase (aP) der Kaninchen Nr. 15 (○)
und Nr. 16 (▲).



Der Einfluß der Bestrahlung der Tiere auf die Wirkung des Goldhaifers.

Durch die künstliche UV-Bestrahlung der mit goldhaferhaltigem Heu gefütterten Kaninchen des Langzeitversuches I konnten experimentell keine Verkalkungserscheinungen der Weichgewebe erzeugt werden, ebensowenig wie durch die alleinige Verfütterung dieses Heues selbst. Der Aussagewert dieses Versuchs war jedoch von vornherein stark eingeschränkt, da weder der Goldhaferanteil noch der Zeitpunkt der Ernte des Heus bekannt waren. Leider stand seinerzeit kein anderes Heu zur Verfügung. Dennoch war es damals von Interesse zu prüfen, welchen möglichen Einfluß die UV-Strahlung auf die Tiere ausübt, da ja bekanntlich Weidetiere dem Einfluß der UV-Strahlung des Sonnenlichtes ausgesetzt sind. Aus den Ausführungen von SCHLEY (1965) sowie BIANCA und WEGMANN (1974) geht hervor, daß das Haarkleid bei Rindern und Kaninchen in normaler Lage die UV-Strahlung fast vollständig abschirmt. Damit dürfte der Einfluß des in der Haut gebildeten Vitamin D_3 auf den Ca-P-Stoffwechsel von vornherein als sehr gering zu erachten sein. JEAN-BLAIN (1971) fand trotzdem bei Weiderindern höhere Serumkalziumwerte als bei Stalltieren, während KIELSZNIA (1966) bei Kälbern nach UV-Bestrahlung vergleichsweise geringfügig erhöhte Phosphorwerte im Serum nachwies.

In dem hier beschriebenen Langzeitversuch I mit goldhaferhaltigem Heu an Kaninchen trat sowohl bei der UV-bestrahlten als auch bei der unbestrahlten Gruppe nur eine geringfügige Erhöhung des Phosphorspiegels im Plasma ein. Die meisten Werte lagen zwischen 3,5 und 4,6 mg/100 ml. Dabei zeigte die bestrahlte Gruppe durchweg um 0,5 mg/100 ml höhere Werte. Diese Beobachtung deckt sich mit den bei Kälbern gewonnenen Ergebnissen (KIELSZNIA, 1966). Der Serumkalziumgehalt stieg während des Versuches bei beiden Gruppen gleichermaßen von 11 mg/100 ml bis auf 13 mg/100 ml an. Obgleich das verfütterte goldhaferhaltige Heu ein für Kaninchen günstiges Ca-P-Verhältnis von 2,24 hatte (CHAPIN und SMITH, 1967), lagen doch die Plasmakalziumwerte unter dem von JEAN-BLAIN (1971) angegebenen durchschnittlichen Wert von 14,0 mg/100 ml.

Nach Futterumstellung von goldhaferhaltigem auf goldhaferfreies Heu gingen die Phosphorwerte beider Gruppen von 3,7 auf 3,0 mg/100 ml zurück. Die Kalziumwerte fielen bei der unbestrahlten Gruppe jedoch sehr viel stärker ab (von 13,2 auf 10,9 mg/100 ml) als bei der bestrahlten (von 12,7 auf 12,2 mg/100 ml). Hinter dieser Erscheinung ist offenbar ein besseres Vermögen der bestrahlten Tiere zu sehen, den Plasmakalziumspiegel nach der Futterumstellung zu erhalten. Möglicherweise läßt sich dies auf die Vitamin D-Synthese in der Haut zurückführen.

Eine eindeutige Antwort darauf, ob in dem verwendeten Heu eine kalzinogene Wirksamkeit enthalten war, ist nicht möglich,

da einerseits das Ausgangsmaterial hinsichtlich seines Goldhaferanteils nicht bestimmt worden war und andererseits die geringen Schwankungen des Kalzium- und Phosphorplasmaspiegels keinen deutlichen Hinweis lieferte. Außerdem ist zu berücksichtigen, daß nach dem heutigen Wissensstand die Versuchsdauer mit 12 Wochen an der unteren Grenze lag, nach der bei alleiniger Goldhaferverfütterung mit Verkalkungen gerechnet werden kann (DIRKSEN et al., 1972, 1973; LIBISELLER et al., 1974).

Aufgrund der Ergebnisse des Langzeitversuches II kann die Hypothese, nach der das Sonnenlicht einen aktivierenden Einfluß auf die kalzinogene Wirksamkeit des Goldhafers ausübt, abgelehnt werden. Auch eine verstärkende Wirkung durch das unter der Sonneneinstrahlung in der Haut gebildete Cholekalziferol kann ausgeschlossen werden. Vielmehr zeigten die im Dunkelstall gehaltenen Kaninchen sehr viel deutlichere, der Diagnose "Kalzinose" nahekommende pathologisch-anatomische Veränderungen in der Aortenmedia und der Niere als die im Freien gehaltenen Kaninchen. Die ebenfalls im Freien gehaltenen und mit Knautgras gefütterten Tiere waren frei von solchen Verkalkungen und Faserdestruktionen. Außerdem konnten bei den im Dunkelstall gehaltenen Kaninchen bei nahezu gleichem Goldhaferverzehr durchweg um 0,5 mg/100 ml höhere Plasmaphosphorwerte ermittelt werden als bei den im Freien gehaltenen, während sich im Kalziumwert kaum Unterschiede feststellen ließen.

Die in einem Parallelversuch mit Goldhafer der gleichen Parzellen gefütterten Schafe zeigten nach 80-tägiger Versuchsdauer

makroskopisch hochgradige Verkalkungen in der Aorta. Ein Einfluß des Sonnenlichtes konnte auch hierbei ausgeschlossen werden, da die im gleichen Dunkelstall gehaltenen Schafe fast noch stärkere Verkalkungen aufwiesen, als die im Freien lebenden Tiere (DIRKSEN et al., 1975).

Daraus kann geschlossen werden, daß sich die kalzinogene Wirkung frischen Goldhafers unabhängig von der Sonnenstrahlung entfaltet.

Der Anstieg des Phosphorspiegels im Plasma als ein Kriterium der Goldhaferwirkung.

Die am besten nachweisbare Wirkung bei der Verfütterung von frischem Goldhafer an Kaninchen stellte nach diesen Versuchen zweifellos die beobachtete Erhöhung des Plasmaphosphorspiegels dar. Aus dem Kurzzeitversuch geht hervor, daß nach etwa drei Tagen das um ca. 2,5 bis 3 mg/100 ml erhöhte Niveau erreicht wurde. Dieses erhöhte Niveau hielt über die gesamte Zeit einer entsprechenden Weideperiode beim Kaninchen an und fiel erst gegen deren Ende mit dem Verzehr eines in der Qualität gering werdenden Futters ab. Alle Kaninchen des Kurzzeitversuchs, die annähernd gleiche Mengen frischen Goldhafers verzehrten, reagierten in der Tendenz gleichartig, doch war die Höhe des Phosphoranstieges von Tier zu Tier verschieden. Die Ursache für diese individuellen Variationen ist bislang noch unbekannt. Sie könnte in der individuellen Reaktionslage der Versuchstiere zu suchen sein und möglicherweise mit den Steuerungsmechanismen

des Ca-P-Stoffwechsels zusammenhängen.

Insgesamt war jedoch der Unterschied zwischen Goldhafer und Knaulgras in der Wirkung auf den Plasmaphosphorspiegel der Versuchskaninchen sehr deutlich. Nach CHAPIN und SMITH (1967) ist der in beiden Grasarten festgestellte Ca-P-Gehalt als ganz normal für den Bedarf des Kaninchens zu beurteilen. Trotz eines etwas niedrigeren Phosphatgehaltes des Goldhafers gegenüber dem des Knaulgrases stieg bei der Fütterung von Goldhafer der Phosphorwert im Plasma stark an und fiel nach der Futterumstellung auf Knaulgras in zwei bis drei Tagen wieder ab, teilweise sogar unter das Ausgangsniveau. Dieser verstärkte Abfall könnte damit zusammenhängen, daß die Mechanismen der Phosphor-Stoffwechselregulation über die Zeit der Futterumstellung hinaus weiterwirken. Denkbar wäre hierbei ein vermehrter Abfluß von Phosphat in die Knochen, da LIBISELLER et al. (1976) bei Kaninchen unter Goldhaferfütterung eine vermehrte Mineralisation feststellen konnten. Aber auch eine vermehrte Phosphatausscheidung über die Nieren bei geringer Phosphatresorption aus dem Darm könnte Anlaß für das Absinken des Plasmaphosphorspiegels sein, ähnlich wie dies ASHFORD (1930) nach Beendigung der Vitamin D-Zufuhr an Kaninchen nachweisen konnte.

Eine ebenfalls nur unter der Goldhaferfütterung zu beobachtende Wirkung war die Erhöhung der Kalziumkonzentration und die Erniedrigung der Aktivität der alkalischen Phosphatase im Plasma der Kaninchen. Die Veränderungen dieser beiden Parameter erschienen in ihrer Ausprägung weniger augenfällig als diejenige der Phosphorkonzentration. Auch dauerte es bei beiden Parametern

durchschnittlich sechs bis sieben Tage, ehe sie nach Futterumstellung ihr erhöhtes bzw. erniedrigtes Niveau wieder erreicht hatten.

Für die Wirksamkeit des Goldhafers scheint das Wachstumsstadium und davon abhängig die Qualität von Bedeutung zu sein. Der blattreiche frische Goldhafer vor dem Rispenschieben muß auch nach dem zweiten Schnitt als sehr wirksam im Hinblick auf eine Steigerung des Plasmaphosphorspiegels angesehen werden. Mit zunehmendem Verholzungsgrad war trotz des oft gesteigerten Verzehrs an Trockensubstanz im Langzeitversuch II ein Abfallen des Phosphorspiegels zu sehen. Nach ABGAROWICZ (1948) läßt das Kaninchen die Tendenz erkennen, den Verzehr an verdaulichem Gesamtnährstoff unabhängig vom Ballastgehalt des Futters auf konstanter Höhe zu halten. Mit zunehmendem Ballastverhältnis weist, bei steigendem Trockensubstanzverzehr, die Aufnahme an verdaulichem Gesamtnährstoff eine sinkende Tendenz auf. Die Folge ist eine erhöhte Darmdurchgangszeit und eine Abnahme des Körpergewichts, die auch im Langzeitversuch II festgestellt werden konnte. Auch das im Herbst aufgewachsene und an abgestorbenen muffigen Pflanzenteilen reichere Futter war nicht so wirksam, wie das frische, junge Goldhafergras.

Bezüglich der Bedeutung, die die verzehrte Goldhafermenge für den Anstieg des Plasmaphosphorspiegels hat, konnten in den beschriebenen Versuchen an verhältnismäßig wenigen Tieren nur Anhaltspunkte gewonnen werden. Wie bereits erwähnt, reagierten die Kaninchen des Kurzzeitversuchs nach annähernd gleichem

Goldhaferverzehr mit einem unterschiedlich hohen Anstieg der anorganischen Phosphorkonzentration im Plasma. Im Langzeitversuch II konnte der Eindruck gewonnen werden, daß Tiere mit einem höheren Futterverzehr auch etwas höhere Werte aufwiesen als solche mit einem niedrigeren Verzehr. Beispielsweise war nach einem wöchentlichen Verzehr von 1360 g Trockensubstanz ein Anstieg um 4 mg/100 ml (von 3,9 auf 7,9 mg/100 ml) innerhalb einer Woche, bei einem anderen Tier mit einem geringeren Futterverzehr von 940 g Trockensubstanz ein geringerer Anstieg um 0,9 mg/100 ml (von 3,6 auf 4,5 mg/100 ml) zu beobachten gewesen (vgl. Abb. 9).

In dem hier beschriebenen Langzeitversuch II konnten bei den meisten Kaninchen Plasmaphosphorwerte von 5 mg/100 ml und darüber festgestellt werden. Zieht man das Überschreiten dieses Grenzwertes zur Charakterisierung der Goldhaferwirkung heran, so zeigt sich, daß fünf von sechs Tieren über eine Dauer von 14 bis 18 Wochen während des 24 wöchigen Versuchs über diesem Wert lagen. Berücksichtigt man hierbei noch die aufgetretenen Verkalkungen in der Aorta und den Nieren, so zeigt sich, daß nur die ersten fünf Tiere Verkalkungen in der Niere sowie Verkalkungen bzw. Faserdestruktionen in der Aorta aufwiesen. Das sechste Tier dagegen war frei von Verkalkungen. Dabei lag dieses Tier mit einem Goldhaferverzehr von 22,5 kg durchaus im Rahmen der übrigen fünf Tiere (22,1-25,6 kg, vgl. Abb. 7). Zwischen der Menge an verzehrtem Goldhafer und seiner kalzinogenen Wirkung auf diese Kaninchen konnten also teilweise

beträchtliche individuelle Schwankungen festgestellt werden, die es nicht erlauben, eine exakte Dosis-Wirkungs-Beziehung aufzustellen.

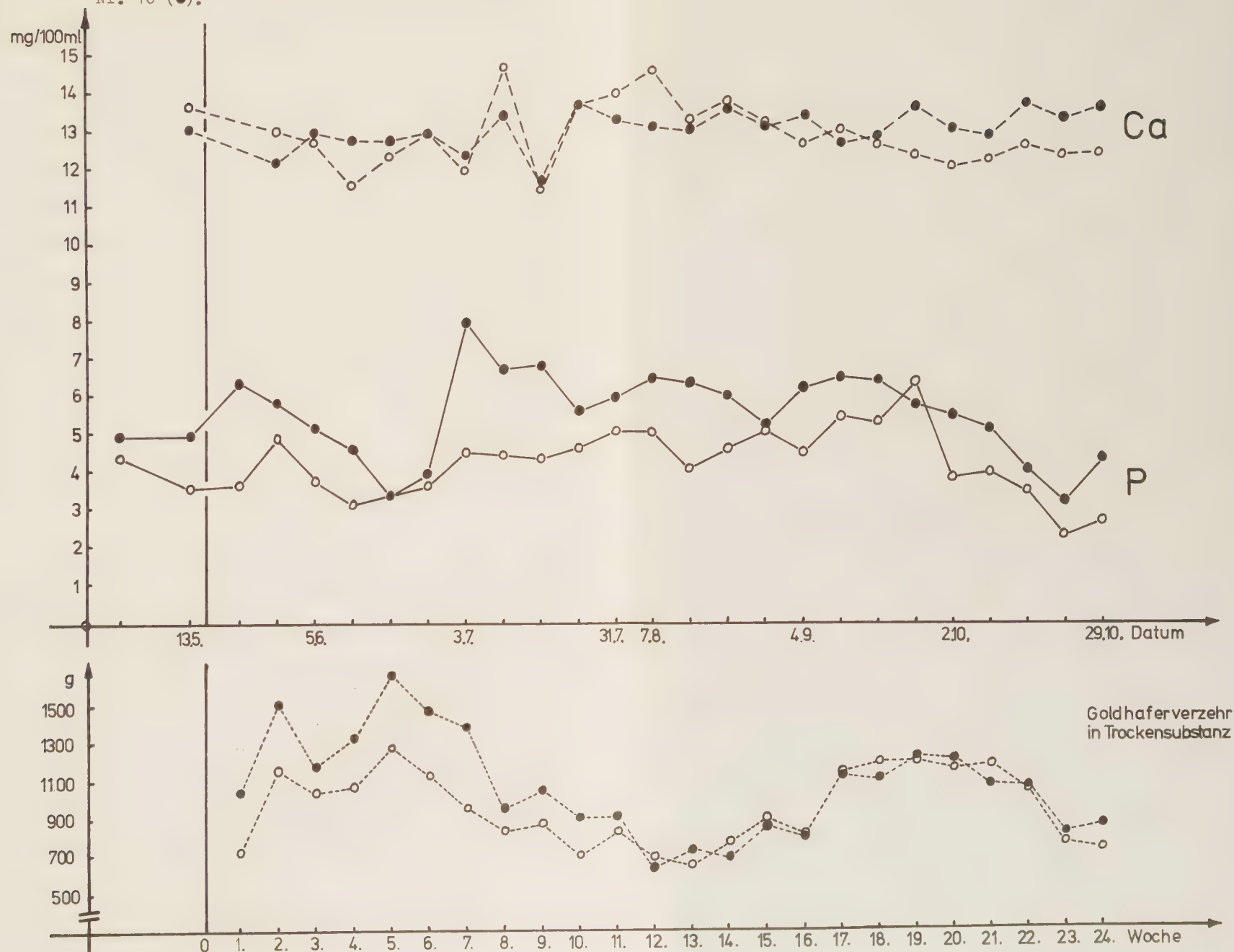
Als eine mögliche Erklärung für den beobachteten niedrigeren Phosphorspiegel der im Freien gehaltenen Kaninchen gegenüber demjenigen der im Stall gehaltenen Tiere könnte die stärkere Beanspruchung des Stoffwechsels angeführt werden. Nach NICKEL-MANN, ROHLING und ROTT (1973) üben allein schon stark wechselnde Außentemperaturen einen steigernden Einfluß auf den Energiestoffwechsel aus, in dem folglich mehr anorganischer Phosphor zum Aufbau energiereicher Verbindungen benötigt wird.

Im Hinblick auf die Entstehung von Aorten- und Nierenverkalkungen muß diesen anhaltenden Plasmaveränderungen einige Bedeutung beigemessen werden.

Nach THIELE (1967) besteht die Aortenmedia vorwiegend aus elastischen Membranen und Fasern, zwischen denen kollagene und elastische Fasern, Muskelzellen und eine Grundsubstanz liegt, die viel saure Polysaccharide enthält. Die elastische Faser besteht aus Elastinfibrillen. Im Gegensatz zu kollagenen Fasern verzweigen sich elastische Fasern reichlich. Aufgebaut sind die elastischen Fasern aus schwefelfreien Gerüsteiweißstoffen. Das in der Aortenmedia des Rindes überwiegend vorkommende Elastin enthält zu 33 % Glycin, neben Alanin, Prolin und Valin (URRY, 1971), Kollagen enthält viel Glycin, Prolin, Hydroxyprolin und Alanin. Beide Proteine haben wenig polare Seitenketten,

Abb. 9: Langzeitversuch II

Plasmawerte für Kalzium (Ca) und anorganischen Phosphor (P),
sowie der Goldhaferverzehr der Kaninchen Nr. 7 (○) und
Nr. 10 (●).





was für die kolloidchemische Beurteilung wichtig ist. Nach URRY (1971) hat von beiden Proteinen das Elastin eine besondere Affinität für Ca-Ionen. Damit werden die neutralen Bindungsstellen positiv geladen und ziehen Anionen an, z.B. Phosphat und Karbonat. Dabei besteht eine Wechselwirkung mit den schwefelsauren Mukopolysacchariden, die aus der Aortenmedia stammend, eine Bindung mit diesen Ca-Ionen eingehen. Das verstärkte Einstromen von Ca-Ionen bewirkt kolloidchemisch eine Verdichtung des Gels und schränkt die Diffusion der zur Ernährung der Media notwendigen Stoffe mit höherem Molekulargewicht ein (HARTMANN und DEICHER, 1976). Damit schwinden zunehmend die in der Media synthetisierten Mukopolysaccharide und der Anteil der an die Ca-Ionen gebundenen Phosphationen erhöht sich. Die beginnende Kristallisation richtet sich entlang der als Matrix dienenden Fibrillen aus. Auf die Entstehung von Verkalkungen wirken an- und abschwellende Kalzium- und Phosphationenschübe beschleunigend (THIELE, 1967).

Die gefundenen Verkalkungen in den Tubulusepithelien und den gewundenen Harnkanälchen der Nierenrinde scheinen mit einer erhöhten Ausscheidung von Kalzium und Phosphat im Ultrafiltrat und einer erhöhten Rückresorption in Beziehung zu stehen. Nach EIGLER, BUCHHORN und DEETJEN (1976) werden die meisten Kalzium- und Phosphationen im proximalen Konvolut durch die Tubuluszellen aktiv rückresorbiert. Für die Kalziumrückresorption wird ein gleicher O_2 -verbrauchender Rückresorptionsmechanismus vermutet, wie für Natrium. Vermutlich kommt es zur Anreicherung dieser Ionen in der Tubuluszelle und zur Ausfällung von Kalziumphosphat.

Das Ergebnis der pathologisch-anatomischen Untersuchung dieses außerhalb des Voralpengebietes mit dem Goldhafer einer Monokultur durchgeführten Kaninchenversuchs bleibt jedoch in seiner Deutlichkeit weit hinter dem der vorher beschriebenen Versuche an Kaninchen zurück (vgl. DIRKSEN et al., 1972, 1973; KÖHLER et al., 1974). Konnten früher schon nach 10 Wochen makroskopisch hochgradige Verkalkungen festgestellt werden, so konnten im Langzeitversuch II nach 24 Wochen nur bei zwei Kaninchen winzige Plaques in der Aorta gefunden und als Verkalkungen histologisch bestätigt werden.

Dagegen konnten histologisch bei 5 von 6 Tieren Nierenverkalkungen festgestellt werden. Diese Tatsache in Verbindung mit den in den früheren Versuchen an Kaninchen gefundenen Verkalkungen der Tubulusepithelien und der gewundenen Harnkanälchen der Nierenrinde lassen den Schluß zu, daß diese Verkalkungen offenbar den Beginn der strukturellen Veränderungen in den Weichgeweben darstellen. Erst danach schließen sich die Veränderungen in der Aortenmedia an. Diese, als weiße Flecken makroskopisch sichtbaren und verkalkungsverdächtigen Veränderungen erweisen sich histologisch als Faserdestruktionen, die offenbar ein Beginnstadium der Verkalkung darstellen. Diese Faserdestruktionen ändern das Gefüge der Aortenwand, einhergehend mit einer Änderung der Lichtbrechung, woraus das weiße Aussehen dieser Herde folgt.

Die Ursache dieser so deutlich ausgefallenen pathologisch-anatomischen Veränderungen der ersten Kaninchenversuche mit Goldhafer (DIRKSEN et al., 1972, 1973) ist nach den Untersuchungen der vorliegenden Arbeit möglicherweise in der Änderung der Fütterung an den Wochenenden zu suchen. Während im Langzeitversuch II den Kaninchen alltäglich nur Goldhafer gereicht wurde, hatten die Kaninchen damals an den Wochenenden betriebsfremdes (goldhaferfreies ?) Heu erhalten. Da nach dem Ergebnis des Kurzzeitversuchs nach der Futterumstellung von Goldhafer auf Knautgras mit einem deutlichen Abfall des Plasmaphosphatspiegels innerhalb von zwei Tagen und einem allmählichen Absinken des Plasmakalziumspiegels zu rechnen ist, entstehen bei erneuter Futterumstellung auf Goldhafer an- und abschwellende Phosphat- und Kalziumionenschübe, die nach THIELE (1967) auf die Entstehung von Verkalkungen beschleunigend wirken.

Aufgrund dieser hier dargestellten Versuche muß festgestellt werden, daß das Kaninchen nach der Verfütterung von frischem Goldhafer hinsichtlich der morphologischen Veränderungen recht unterschiedlich und zum Teil erst nach sehr langer Zeit (10 - 24 Wochen) mit Verkalkungen des Gefäßsystems reagiert. Verkalkungen der Niere kommen innerhalb dieser Zeit bei fast allen Tieren vor.

Die Frage, ob der Goldhafer allein über die Erhöhung des Ca-P-Spiegels im Plasma oder im Zusammenhang mit einer möglichen Toxinwirkung kalzinogen wirkt, kann nach diesen Untersuchungen nicht beantwortet werden.

Gemeinsamkeiten von Vitamin D, Solanum malacoxylon und
Trisetum flavescens in ihrer Wirkung am Kaninchen.

Beim Vergleich der Wirkungen von Vitamin D, S. malacoxylon und T. flavescens auf das Kaninchen sind gewisse Gemeinsamkeiten zu finden:

Pathologisch-anatomisch treten bei allen durch diese drei Stoffe verursachten Verkalkungskrankheiten zuerst Verkalkungen in den Nieren auf, dann erst folgen die Aorta und die anderen Organe (LINDT, 1968; ROSSI et al., 1969). In den Nieren verkalken sowohl die Arteriolen, als auch die Epithelien der Tubuli contorti proximales und der Harnkanälchen (JAFFE, 1931; ROSSI et al., 1969). In der Aorta ist jeweils die innerste Schicht der Media betroffen mit Kalkinkrustationen der elastischen Fasern (EISENSTEIN und ZEROULIS, 1964; ROSSI et al., 1969).

Im Hinblick auf den Ca-P-Stoffwechsel vermögen Vitamin D₃ und die in den beiden Pflanzen enthaltenen unbekannten Wirkstoffe den Gehalt an anorganischem Phosphor im Blut des Kaninchens innerhalb kurzer Zeit anzuheben. WARKANY (1929) beschrieb einen Anstieg um 4 mg % binnen 24 Stunden nach der oralen Gabe von 200 000 I.E. Vitamin D₃. HUMPHREYS (1973) beobachtete nach 10 000 I.E. Vitamin D₃ innerhalb von vier Tagen einen stetigen Anstieg um insgesamt 1 mg %. Wässrige Extrakte aus 250 mg bzw. 333 mg getrockneter S. malacoxylon-Blätter bewirkten eine Erhöhung des anorganischen Phosphors um 2,3 mg/100 ml (LADIZESKY

et al., 1973) bzw. 3,5 mg % (MAUTALEN, 1971) jeweils innerhalb eines Tages. Auch der methanolische Extrakt aus 10 g dieser Blätter führte zu einem Phosphoranstieg um 3,5 mg % in einem Tag (HUMPHREYS, 1973).

In den eigenen Versuchen an Kaninchen konnten bei täglicher Fütterung von 153 g Goldhafer (in Trockensubstanz) nach zwei bis vier Tagen Anstiege zwischen 1,4 und 4,2 mg/100 ml festgestellt werden.

Der Einfluß von Vitamin D und *S. malacoxylon* auf eine Erhöhung des Kalziumspiegels im Plasma des Kaninchens ist gering (ASHFORD, 1930; MAUTALEN et al., 1969). Die Aktivität der alkalischen Phosphatase im Plasma unterliegt einer Verminderung (LAWSON, 1970; MAUTALEN et al., 1969). Die eigenen Untersuchungen mit Goldhafer erbrachten ähnliche Ergebnisse.

Eine Wirkung auf die Erhöhung der Kalzium- und Phosphatresorption sowie auf eine vermehrte renale Ausscheidung dieser Ionen ist für Vitamin D und *S. malacoxylon* nachgewiesen worden (ASHFORD, 1930; KENNEDY, 1965; MAUTALEN, 1971).

Die Auswirkungen auf den Knochenstoffwechsel bei Rachitis im Sinne einer verbesserten Mineralisation unter Vitamin D-Einfluß sind allgemein bekannt. Der unbekannte Wirkstoff in *T. flavescens* kann lamelläre Knochenapposition erzeugen (LIBISELLER et al., 1976). *S. malacoxylon* vermag ebenfalls

Knochenappositionen zu fördern, wie dies an Rindern nachgewiesen werden konnte (DÖBEREINER und DÄMMRICH, 1974).

Beurteilung des Kaninchens als Versuchstier zur Erforschung der enzootischen Kalzinose

Auf Grund dieser hier dargestellten Versuche muß festgestellt werden, daß das Kaninchen nach der Verfütterung von frischem Goldhafer in morphologischer Hinsicht sehr different und erst nach sehr langer Zeit (10 - 24 Wochen) mit Verkalkungen des Gefäßsystems reagiert. Verkalkungen der Niere kommen innerhalb dieser Zeit bei fast allen Tieren vor.

Dagegen zeigt diese Untersuchung, daß alle verwendeten Kaninchen auf die Verfütterung von frischem Goldhafer hin sehr empfindlich innerhalb von zwei bis drei Tagen mit einer deutlichen Erhöhung der anorganischen Phosphorkonzentration im Plasma reagieren.

Damit ist es möglich, frühzeitig am lebenden kleinen Versuchstier nach der Gabe relativ kleiner Mengen von frischem Goldhafer eine kalzinogene Aktivität über die Erhöhung des Plasmaphosphorgehaltes zu erkennen. Dies kann zur Klärung des noch unbekannten Wirkungsmechanismus von Bedeutung sein.

ZUSAMMENFASSUNG

In der vorliegenden Arbeit wurde an Kaninchen die Frage geprüft, ob die kalzinogene Wirkung des Goldhafers (*Trisetum flavescens* (L.) P.B.) von der UV- oder Sonnenstrahlung abhängig ist oder durch sie verstärkt wird. Ferner wurde der Einfluß des Goldhafers auf den Ca-P-Spiegel des Plasmas untersucht und der Frage nachgegangen, wie zuverlässig das Kaninchen als Versuchstier auf die Fütterung von frischem Goldhafer reagiert.

Die Literaturübersicht geht auf die bisherige Verwendung des Kaninchens als Versuchstier für die Erforschung der enzootischen Kalzinose, der Hypervitaminose D, der durch *Solanum malacoxylon* hervorgerufenen Enteque seco und anderer Arteriosklerosen ein. Sie stellt die Besonderheit des Ca-P-Stoffwechsels des Kaninchens dar, welche dadurch gekennzeichnet ist, daß das Kaninchen unabhängig von seinem Bedarf ein erhöhtes Ca-Angebot resorbiert und dieses Kalzium vermehrt über die Niere und den Darm wieder ausscheidet. Zudem ist der Kalziumspiegel höher als bei anderen Haussäugetieren.

Im ersten, 80 Tage dauernden Versuch wurden Kaninchen mit einer künstlichen UV-Quelle bestrahlt. Dazu bekamen sie als Futter das Heu eines von der Kalzinose betroffenen Betriebes aus dem Allgäu. Pathologisch-anatomisch konnten weder bei der bestrahlten noch bei der unbestrahlten Gruppe (je drei Tiere)

Verkalkungen gefunden werden. Die Plasmaphosphorwerte waren bei der bestrahlten Gruppe geringfügig erhöht, die Kalziumwerte stiegen bei beiden Gruppen gegen Versuchsende an. Nach der Futterumstellung auf goldhaferfreies Heu ging bei beiden Gruppen der Phosphorspiegel im Plasma zurück, der Kalziumspiegel fiel bei der unbestrahlten Gruppe stärker ab als bei den bestrahlten Tieren.

Im zweiten, 171 Tage dauernden Versuch wurde eine Kaninchen-
gruppe (vier Tiere) im Dunkelstall, die andere (vier Tiere) im Freien an der Sonne gehalten und mit frischem Goldhafer (*Trisetum flavescens* (L.) P.B.) gefüttert. Als Kontrollgruppe dienten drei Kaninchen, die ebenfalls im Freien gehalten und mit Knaulgras (*Dactylis glomerata* (L.)) gefüttert wurden. Bei der Sektion nach 171 Tagen war die Kontrollgruppe frei von Aorten- und Nierenverkalkungen. Bei einem der beiden am 118. Tag seziierten Kaninchen der Goldhafergruppen wurden Faserdestruktionen in der Aortenmedia gefunden. Fünf von sechs der am 171. Tag seziierten Tiere der Goldhafergruppen zeigten Nierenverkalkungen sowie Faserdestruktionen und Verkalkungen in der Aortenmedia. Ein Tier war völlig frei von Verkalkungserscheinungen. Die im Dunkelstall gehaltenen Tiere wiesen graduell stärkere Veränderungen in der Aorta auf.

Während der Fütterung von frischem Goldhafer des ersten Schnitts nahm mit zunehmendem Verholzungsgrad der Pflanze bei beiden Gruppen der Verzehr an Trockensubstanz zu, der Plasmaphosphorspiegel sank deutlich ab, während der Plasmakalziumspiegel sein Niveau beibehielt. Unter der Gabe von neu aufge-

wachsenem Goldhafer vor dem Rispschieben stieg innerhalb einer Woche der Phosphorspiegel deutlich über das Ausgangsniveau an und behielt dieses erhöhte Niveau so lange bei, wie qualitativ guter Goldhafer gefüttert werden konnte. Der Kalziumspiegel stieg ebenfalls leicht an, während die Kontrollgruppe, ohne ähnliche Änderungen zu zeigen, mit beiden Parametern deutlich unter den Werten der Goldhafergruppen lag.

Im dritten Versuch über 31 Tage wurde einer Kaninchengruppe (zwei Tiere) frischer junger Goldhafer gefüttert, der anderen (zwei Tiere) frisches junges Knaulgras. Nach sieben, sechs und neun Tagen erfolgte jeweils ein Futterwechsel. Die Futterumstellung von Knaulgras auf Goldhafer bewirkte innerhalb von zwei bis drei Tagen einen deutlichen Anstieg des anorganischen Plasmaphosphors, einen geringeren Anstieg des Kalziumspiegels und einen Abfall der alkalischen Phosphataseaktivität im Plasma nach jeweils sechs bis sieben Tagen. Nach der Umstellung auf Knaulgras fiel in zwei bis drei Tagen der Plasmaphosphorspiegel oft unter den Ausgangswert ab, die Werte der beiden anderen Parameter normalisierten sich wieder in sechs bis sieben Tagen.

Aus den Versuchsergebnissen kann geschlossen werden, daß die kalzinogene Wirkung in *Trisetum flavescens* weder von der UV- oder Sonnenstrahlung abhängig ist, noch durch sie verstärkt wird. Hinsichtlich der pathologisch-anatomischen Veränderungen reagierte das Kaninchen sehr unterschiedlich und erst nach langer Zeit. Auf die Fütterung von frischem Goldhafer hin reagierten aber alle Tiere mit einer deutlichen Erhöhung des Plasmaphos-

phorspiegels, wie dies auch nach der Gabe von hohen Dosen Vitamin D_3 und von *Solanum malacoxylon* zu beobachten ist.

Damit ist es möglich, frühzeitig, am lebenden kleinen Versuchstier über die Erhöhung des Plasmaphosphorspiegels eine kalzinogene Wirkung von frischem Goldhafer zu erkennen.

SUMMARY

The purpose of this dissertation was to seek answers to the following questions, using rabbits as test animals.

1. Does the calcinogenic effect of yellow oat grass (*Trisetum flavescens* (L.) P.B.) depend upon, or is it increased by, UV or solar radiation?
2. What effect has the ingestion of yellow oat grass upon plasma levels of calcium and inorganic phosphorus?
3. Is the rabbit a reliable test animal as to its reaction to the ingestion of fresh yellow oat grass?

The survey of literature deals with the previous use of rabbits as test animals in the investigation of enzootic calcinosis, hypervitaminosis D, Enteque seco caused by *Solanum malacoxylon*, and other arterioscleroses. Mention is made of a particularity in the rabbits' metabolism of calcium and phosphorus: ingested calcium is absorbed in quantities exceeding actual requirement, and excreted via kidneys and intestines. In rabbits, the blood level of calcium is also higher than in other domestic mammals.

In the first experiment (lasting 80 days) rabbits were subjected to artificial UV radiation. They received a ration of hay from a farm in the Allgäu region in which enzootic calcinosis of cattle constitutes a problem. No calcifications could be found upon postmortem examinations in the test group or in a

control group not subjected to UV radiation (3 animals each). Plasma phosphorus levels rose in both groups towards the end of the test period. After a change of regimen to hay free from yellow oat grass, plasma P levels dropped to normal in both groups; Ca levels declined stronger in the control group than in the test group.

In a second experiment lasting 171 days, one group of (4) rabbits was kept in dark stalls, another (4) in the open air. Both groups received fresh yellow oat grass. Three rabbits, serving as controls, were kept in the open air, and were fed orchard grass (*Dactylis glomerata* (L.)). Upon post-mortem after 171 days, the controls revealed no aortic or renal calcifications. One of the rabbits receiving yellow oat grass was autopsied after 118 days. Destruction of elastic fibres of the aortic tunica media could be demonstrated. Five out of six rabbits examined on the 171st day showed renal calcifications, as well as destruction of fibres and calcifications of the aortic media. In one animal, calcifications were completely absent.

During the feeding of fresh yellow oat grass of the first reaping, dry matter intake increased in both groups as lignification progressed. Plasma P concentrations dropped to pre-trial levels after an initial slight rise, whereas Ca levels remained unchanged. Within one week after a change of regimen to young yellow oat grass of the second reaping (prior to the appearance of panicles), plasma inorganic P concentrations rose distinctly above starting levels and remained elevated

as long as good quality yellow oat grass was fed. Plasma Ca concentrations also rose slightly, whereas in the control animals, both parameters stayed well below the values of the test groups, and did not show any comparable changes.

A third assay lasting 31 days involved two groups of 2 rabbits each. Fresh young yellow oat grass and fresh young orchard grass were fed alternatingly, switches of regimen taking place on the 7th, 14th, and 23rd day. A change of regimen from orchard grass to yellow oat grass led to a distinct rise of plasma inorganic P concentrations within 2 to 3 days; a slight rise in Ca concentrations and a decrease of plasma alkaline phosphatase activity could be demonstrated within 6 to 7 days.

From the results it is concluded that the calcinogenic effect of *Trisetum flavescens* neither depends upon exposure of test animals to UV or solar radiation nor is it increased by such radiation.

Morphological alterations occurred only late and erratically. By contrast, a uniform and distinctive rise in plasma inorganic P concentrations could be demonstrated in all test rabbits after the ingestion of fresh young yellow oat grass. This phenomenon is comparable to the reaction to high doses of vitamin D and to *Solanum malacoxylon*.

Thus an in vivo model assay has been established for the shortterm detection of calcinogenic activity of fresh yellow oat grass, through the measurement of the rise in plasma inorganic P concentration in a small laboratory animal.

LITERATURVERZEICHNIS

- Abgarowisz, F. (1948)
Einfluß des Ballastes auf die Verdauung des Kaninchens.
ETH Diss. Zürich
- Anonym, - (1968)
Sortenratgeber Gräser Kleearten
DLG Verlags GmbH Frankfurt, 2. Auflage, 1968
- Anonym, - (1972)
The UFAW handbook on the care and management of
laboratory animals.
Churchill Livingstone, Edinburgh and London, 4 th ed., 1972
- Arnold, R.M. (1969)
The interaction of calcium, magnesium, phosphorus, other
minerals and Vit. D in the aetiology of the Manchester
wasting disease.
Trop. Anim. Hlth. Prod. 1, 75-84
- Ashford, C.A. (1930)
The phosphorus distribution in blood and the calcium
and phosphorus excretion during hypervitaminosis D.
Biochem. J. 24, 661-668
- Basudde, C.D.K. und D.J. Humphreys (1975)
The effect of the active principle of Solanum malacoxylon
on rabbits and the inhibition of its action by Actinomycin D.
Calcif. Tiss. Res. 18, 133-139
- Becker, M. und K. Nehring (1967)
Handbuch der Futtermittel
Verlag Paul Parey, Berlin
- Besancon, P. und F. Lebas (1969)
Utilisation du calcium par le lapin.
Ann. zootechn. 18, 437-443

- Bianca, W. und H. Wegmann (1974)
Die Durchlässigkeit von Rinderhaar für ultraviolette Strahlung.
Schweiz. Arch. Tierheilk. 116, 141-146
- Briggs, A.H. und S. Melvin (1961)
Ion movements in isolated rabbit aortic strips.
Am. J. Physiol. 201, 365-368
- Carillo, B.I. und N.A. Worker (1967)
Enteque seco: Arteriosclerosis y calcificacion metastatica de origen toxico en animales a pastoreo...
Rev. Invest. Agropecuarias, INTA, Argent., Serie 4,
Pat. Anim. 4, 9-30 und
Actas del Congreso Argentino de la Reproducción Animal,
Buenos Aires 1967, II, 101-110
- Chapin, R.E., und S.E. Smith (1967, a)
Calcium requirement of growing rabbits.
J. Animal Sci. 26, 67-71
- Chapin, R.E., und S.E. Smith (1967, b)
Calcium and phosphorus in rabbit diets.
Cornell Vet. 57, 480-500
- Clarkson, T.B. (1972)
Animal models of atherosclerosis.
In: Advances in Veterinary Science and Comparative Medicine
16, 151-173, Academic Press New York, London
- Cohrs, P., R. Jaffe und H. Meessen (1958)
Pathologie der Laboratoriumstiere. Bd. I u. II,
Springer Verlag Berlin, Göttingen, Heidelberg
- Collazo, I.A., P. Rubino und B. Varela (1929)
Knochenbildung und Wachstumsstörungen bei der Hypervitaminose D.
Virch. Arch. 274, 281; zit. n. Cohrs, Jaffè, Meessen (1958).

Collier, W.A. (1927)

Zur Kenntnis einer als "Enteque" bezeichneten Krankheit der Rinder in der Provinz Buenos Aires.

Z. Infekt.-Kr., parasit. Kr., Hyg. Hst. 31, 81-92

Copland, I.W. (1975)

Enzootic calcinosis of cattle in Papua New Guinea.

Aust. Vet. J. 51, 326

Cowell, S.I. (1937)

Biochem. J. 31, 848; zit. n. Sternkopf (1963)

Dahme, E., und E. Weiss (1968)

Grundriß der Speziellen Pathologischen Anatomie der Haustiere.

Ferdinand Enke Verlag Stuttgart.

Dämmrich, K., G. Dirksen und P. Plank (1970)

Über eine enzootische "Kalzinose" beim Rind - 3.

Skelettveränderungen.

Dtsch. Tierärztl. Wschr. 77, 342-346

Davenport, H.W. (1971)

Physiologie der Verdauung.

F.K. Schattauer Verlag Stuttgart, New York

Dirksen, G. (1969)

Neuere Beobachtungen und Entwicklungen auf dem Gebiet der Stoffwechselstörungen der Hochleistungskuh.

In: Tagungsbericht der "Schaumann-Stiftung zur Förderung der Agrarwissenschaften", S. 55-64

Dirksen, G., P. Plank, A. Spieß, T. Hänichen und K. Dämmrich

(1970). Über eine enzootische "Kalzinose" beim Rind -

1. Klinische Beobachtungen und Untersuchungen.

Dtsch. Tierärztl. Wschr. 77, 321-338

Dirksen, G., P. Plank, T. Hänichen, K. Dämmrich und A. Spieß (1971)

Über eine enzootische "Kalzinose" beim Rind -

4. Untersuchungen an Schafen mit selektiver Verfütterung von Klee, Gräsern oder Kräutern.

Dtsch. Tierärztl. Wschr. 78, 9-12

- Dirksen, G., P. Plank, T. Hänichen und A. Spieß (1972).
Über eine enzootische Kalzinose beim Rind -
5. Experimentelle Untersuchungen an Kaninchen mit
selektiver Verfütterung von Knautgras (*Dactylis
glomerata*), Goldhafer (*Trisetum flavescens*) und
einem Gräsergemisch.
Dtsch. Tierärztl. Wschr. 79, 77-79
- Dirksen, G., P. Plank, T. Hänichen und A. Spieß (1973)
Über eine enzootische Kalzinose beim Rind -
VI. Experimentelle Kalzinose beim Kaninchen durch
selektive Verfütterung von Goldhafer (*Trisetum flavescens*).
Dtsch. Tierärztl. Wschr. 80, 148-152
- Dirksen, G., P. Plank, U. Simon, T. Hänichen, P. Daniel
und A. Spieß (1974)
Über eine enzootische Kalzinose beim Rind -
VII. Nachweis der kalzinogenen Wirkung von Goldhafer
(*Trisetum flavescens* L. P.B.) beim Wiederkäuer.
Dtsch. Tierärztl. Wschr. 81, 1-5
- Dirksen, G., P. Plank, U. Simon, T. Hänichen, P. Daniel
und A. Spieß (1975)
Über eine enzootische Kalzinose beim Rind -
VIII. Untersuchungen über die mögliche Bedeutung des
Sonnenlichtes (UV-Strahlen) bei der Entstehung der
Kalzinose sowie Nachweis der kalzinogenen Wirkung von
getrocknetem Goldhafer (*Trisetum flavescens* L. P.B.).
Dtsch. Tierärztl. Wschr. 82, 387-390
- Döbereiner, J., C. Hubinger-Tokarnia, J.B.D. da Costa, J.L.E.
Campos und M. de Souza Dayrell (1971)
"Espichamento", intoxicacao de bovinos por *Solanum
malacoxylon*, no Pantanal de Mato Grosso.
Pesq. agropec. bras., Séc. Vet. 6, 91-117
- Döbereiner, J. und K. Dämmrich (1974)
26. Skelettveränderungen bei Rindern nach Vergiftungen
mit *Solanum malacoxylon* Sendtner.
Verh. Dtsch. Ges. Path. 58, 323-326

- Eigler, I., E. Buchborn und P. Deetjen (1976)
Niere und ableitende Harnwege.
In: Siegenthaler, W.: Klinische Pathophysiologie,
Georg Thieme Verlag Stuttgart, 3. Auflage, S. 848-865
- Eisenstein, R. und L. Zeroulis (1964)
Vit. D induced aortic calcification.
Arch. Path. 77, 27-35
- Gaggino, O.P., P.D. Despande und I.M. Tilley (1967)
Reproducción experimental de lesiones
arterioescleróticas características del Entequ
seco en ratas.
Boletín Técnico No. 60, Estación Experimental
Agropecuaria
Balcarce, INTA, zit. n. Rossi, Gac. Vet. 31, 230,
415-426 (1969)
- Garces, N.E., A.K. Okada, E. Lando, B. Ruksan, I.P. Culot,
I.M.A. Tilley, P.O. Despande und R.M. Roberts (1966)
Efecto del Sol. malacoxylon en los niveles de calcio y
fósforo en sangre de bovinos. Simposio sobre Entequ seco.
VII Congreso Panamericano de Farmacia y Bioquímica,
Buenos Aires, Argentina
- Goldsmith, M.W. und D.J. Parry (1966)
Heparin-induced hypocalcaemia in rabbits.
Nature 210, 1286-1287
- Göttche, O. und B. Kellner (1931)
Die Toxizität einiger Ergosterinpräparate.
Arch. Kinderheilk. 94, 129; zit. n. Cohrs, Jaffé,
Meessen
- Hall, R.A. und T.P. Whitehead (1970)
Adsorption of serum calcium by plastic sample cups.
J. clin. Path. 23, 323-326
- Hansemann, - (-)
zit. n. Collier (1927)
- Hartmann, F. und H. Deicher (1976)
Bindegewebe.
In: Siegenthaler, W.: Klinische Pathophysiologie,
Georg Thieme Verlag Stuttgart, 3. Auflage, S. 922-966

- Hesse, M. (1924)
 Virch. Arch. 249, 437
 zit. n. Lopes de Faria (1955)
- Humphreys, D.J. (1973)
 Studies on the active principle of Solanum
 malacoxylon.
 Nature 246, (No 153), 155-157
- Itoh, H. und T. Hatano (1960)
 Calcium metabolism in the rabbit.
 I. Time distribution of calcium in the gastrointestinal
 tract of young and mature rabbit.
 Tohoku J. agric. Res. 11, 341-356
- Jaffé, R. (1931)
 Anatomie und Pathologie der Spontanerkrankungen
 der kleinen Laboratoriumstiere.
 Julius Springer, Berlin
- Jean-Blain, M. (1946)
 Carence calcique chez le lapin.
 Revue Méd. Vét. 1946, 307-311
- Jean-Blain, M. (1971)
 Etat actuel des connaissances sur les métabolismes
 du calcium et du phosphore chez les animaux domestique.
 Cah. Méd. vét. 40, 100-129
- Johnstone, O.P. (1907)
 Diskussionsbemerkung zu der Arbeit von Miles, A.B.:
 Spontaneous arterial degeneration in rabbits.
 J. Amer. Med. Assoc. 49, 1173
- Karlson, P. (1970)
 Kurzes Lehrbuch der Biochemie für Mediziner
 und Naturwissenschaftler.
 Georg Thieme Verlag Stuttgart
- Kellner, O. und M. Becker (1966)
 Grundzüge der Fütterungslehre.
 Verlag Paul Parey Hamburg Berlin, 14. Auflage

- Kennedy, A. (1965)
The urinary excretion of calcium by normal rabbits.
J. comp. Path. Ther. 75, 69-74
- Kielsznia, R. (1966)
Biochemical and morphological changes in the blood
of calves exposed to a 1000-Watt-mercury-quartz lamp.
Medycyna wet. 22, 103-105
- Kitt, T. (1950)
Lehrbuch der allgemeinen Pathologie für Tierärzte.
Ferdinand Enke Verlag Stuttgart, 7. Auflage
- Klapp, E. (1971)
Wiesen und Weiden.
Paul Parey Verlag Berlin
- Klitsch, K. (1960)
Der Futterbau.
VEB Gustav Fischer Verlag Jena
- Kobylnski, S. (1971)
Zur Pathogenese der Gewebsverkalkungen bei der
Vitamin-D-Intoxikation.
Exp. Path. 5, 174-182
- Kolb, E. (1974)
Lehrbuch der Physiologie der Haustiere II.
Gustav Fischer Verlag Stuttgart, 3. Auflage, S. 672-673
- Krook, L., R.H. Wasserman, I.N. Shively, A.H. Tashjian,
T. Brokken und I.F. Morton (1975, a)
Hypercalcaemia and calcinosis in Florida horses:
Implication of the shrub *Cestrum diurnum* as the
causative agent.
Cornell Vet. 65, 26-56
- Krook, L., R.H. Wasserman, K. McEntree, T.D. Brokken und
M.B. Teigland (1975, b)
Cestrum diurnum poisoning in Florida cattle.
Cornell Vet. 65, 557-575

- Ladizesky, M., C. Mautalen und Y.H. Camberos (1974)
 Solanum malacoxylon: Comparacion de su actividad
 biologica al administrarlo por via oral o parenteral
 en animales de laboratorio.
 Medicina, Buenos Aires, 34 (2), 127-132
- Lawson, D.E. (1970)
 Vitamin D: new findings on its metabolism and its
 role in calcium nutrition.
 Proc. Nutr. Soc. 29/30, 47-58
- Lee, M.R., L.J. Deftos und J.T. Potts (1969)
 Control of secretion of thyrocalcitonin in the rabbit
 as evaluated by radioimmunoassay.
 Endocrinology 84 (I), 36-40
- Leibetseder, J., M. Skalicky und A. Kment (1971)
 Phosphor-Stoffwechsel-Untersuchungen beim Rind im
 Zusammenhang mit der Kalzinose ("Weidekrankheit").
 Dtsch. tierärztl. Wschr. 78, 593-616
- Lesné, (-), (-) Dubois und (-) Simmonet (-)
 zit. n. Jean-Blain (1971)
- Libiseller, R. und P. Gunhold (1969)
 Calcinosen bei Kühen.
 Die Naturwissenschaften 56, 39
- Libiseller, R., E. Glawischnig, H. Köhler und R. Swoboda (1974)
 Zur Kalzinose der Rinder in Österreich
 II. Experimentelle Auslösung einer Kalzinose bei
 Schafen und Kaninchen.
 Zbl. Vet. Med.A 21, 705-730
- Libiseller, R., E. Glawischnig, H. Köhler und R. Swoboda (1976)
 Zur Kalzinose der Rinder in Österreich
 III. Experimentelle Auslösung einer Kalzinose bei
 Schafen und Kaninchen durch grünen Goldhafer (Trisetum
 flavescens) aus dem pannonischen Klimagebiet.
 Zbl. Vet Med. A 23, 1-30

- Lindt, S. (1968)
D-hypervitaminotische Calcinose bei verschiedenen Tierarten.
Wien. Tierärztl. Mschr. 54, 148-164
- Lopes de Faria, J. (1955)
Medianekrose der großen und mittelgroßen Arterien nach orthostatistischem Kollaps des Kaninchens.
Beitr. path Anat. 115, 373-404
- Lynd, F.T., E.H. Willers, L.A. Weight und P.W. Gebauer (1965)
Bovine arteriosclerosis in Hawaii.
Am. J. Vet. Res. 26, 1344-1349
- Mathieu, L.G. und S.E. Smith (1961)
Phosphorus requirements of growing rabbits.
J. Anim. Sci. 20, 510-513
- Mautalen, C.A., F.M. Rossi, M.E. Dalloroso, H. Daskal und A. Leiva (1969)
Efecto des Solanum malacoxylon sobre el metabolismo fosfo-calcio en el conejo.
XIV Reun. Soc. Investnes.clin., Bariloche, Argentina, Medicina, Buenos Aires, 29, 440
- Mautalen, C.A. und F.M. Rossi (1970)
Efecto de Solanum malacoxylon sobre el metabolismo fosfo-calcio en el conejo.
Medicina, Buenos Aires, 30, 433, zit. n. Mautalen (1971)
- Mautalen, C.A. (1971)
Mecanismo de accion del Solanum malacoxylon sobre el metabolismo mineral en el conejo.
Revista Argentina de Endocrinologica y Metabolismo 17 (1), 1-18
- Mautalen, C.A. (1972)
Mechanism of action of Solanum malacoxylon upon calcium and phosphate metabolism in the rabbit.
Endocrinology 90, 563-567

- Miles, A.B. (1907)
Occurrence of spontaneous arterial degeneration in the rabbit.
J. Amer. Med. Assoc. 51, 1056
- Milhaud, G. und M. Fontaine (1965)
Phosphatases in veterinary medicine.
Revue Path. comp. 65, 361-370
- Natalis, J.Y. (1972)
Spezial features of digestion in the rabbit.
Thèse, Ecole Nationale Vétérinaire, Lyon
- Neumann, F., T.A. Nobel und U. Kolopfer (1973)
Calcinosis in goats.
J. Comp. Path. 83, 343-350
zit. n. Humphreys, D. J., C.D.K. Basudde, Z. Varghese und J.F. Moorhead (1975): Plant induced calcinosis in animals. In: Vitamin D and problems to uremic bone disease.
Walter de Gruyter & Co Berlin, New York
- Nichelmann, M., H. Rohling und M. Rott (1973)
Der Einfluß der Umgebungstemperatur auf die Höhe des Energieumsatzes erwachsener Kaninchen.
Arch. exp. Vet. Med. 27 (3), 491-497
- Nieberle, K. und P. Cohrs (1949)
Lehrbuch der speziellen pathologischen Anatomie der Haustiere.
Gustav Fischer Verlag Jena, 3. Auflage
- Norman, A.W. (1974)
Gegenwärtige Vorstellungen zum biochemischen Wirkungsmechanismus von Vitamin D.
Münch. med. Wschr. 116 (37), 1585-1598
- Pearce, J.M. (1908)
zit. n. Cohrs, Jaffè, Meessen (1958)

- Richterich, R. (1971)
 Klinische Chemie. Theorie und Praxis.
 S. Karger Verlag Basel, 3. Auflage
- Rossi, F.M., M.E. Dalloroso, H. Daskal, A. Leiva und
 O.P. Gaggino (1969)
 Calcification de tejidos blandos en conejos producida
 por Solanum malacoxylon.
 1^o Congreso Mundial de Pathologia, Buenos Aires
- Rossi, F.M., M.E. Dalloroso, H.E. Daskal, O.P. Gaggino und
 A. Leiva (1969)
 Reproduccion experimental de entequ seco en conejo.
 I. Lesiones cardiovasculares.
 Gaz. Vet. 31, 415-426
- Schiff, A. (1930)
 Die durch Vigantol erzeugbaren Gefäßwandveränderungen
 und ihre Rückbildungsfähigkeit im Tierversuch.
 Virch. Arch. 278, 62
 zit. n. Cohrs, Jaffè, Meessen (1958)
- Schley, P. (1965)
 Sowjetische bioklimatische Forschungsarbeiten auf dem
 Gebiete der Tierzucht und Tierhaltung von 1945-1963.
 Herausgeber: Inst. für kontinentale Agrar- und Wirt-
 schaftsforschung der Justus Liebig-Universität Gießen,
 Bd. 31
 Kommissionsverlag Otto Harrassowitz Wiesbaden.
- Schmidtman, N. (1929)
 Ist der Vigantolgefäßschaden rückbildungsfähig?
 Klin. Wschr. 8
 zit. n. Cohrs, Jaffè, Meessen (1958)
- Schulze, R. (1970)
 Strahlenklima der Erde.
 Steinkopf Verlag Darmstadt
- Seifried, O. (1934)
 Lehrgang der Histopathologie für Studierende
 und Tierärzte.
 Julius Springer, Berlin

Seifried, O. (1937)

Die Krankheiten des Kaninchens.

Julius Springer Verlag Berlin

Slesinger, L. (1970)

Effect of blood serum preservation on alkaline phosphatase activity in productive animals.

Vet Med. Praha 15, 235-239

Spieß, A. (1974)

Weitere Beobachtungen über Wesen und Verlauf der enzootischen Kalzinose des Rindes. - Erhebungen in einem Allgäuer Betrieb.

Vet.med. Diss. Gießen

Spiricher, W.B. und N.V. Blazheiwich (1969)

Zur Untersuchung der toxischen Wirkung von Vitamin D.

Int. Z. Vitaminforsch. 39, 30

zit. n. Kobylinski (1971)

Spörri, H. und H. Stünzi (1969)

Pathophysiologie der Haustiere.

Paul Parey Verlag Berlin Hamburg

Stephan, E. (1963)

Über biometeorologische Strahleneinflüsse auf den Organismus von Tieren.

Dtsch. Tierärztl. Wschr. 70, 274-278

Sternkopf, G. (1963)

Über Calcium-Phosphor-Bilanzen an Kaninchen bei Fütterung mit Luzerne und Rotklee.

Arch. für Tierernährung 13, 247-253

Thiele, H. (1967)

Histolyse und Histogenese, Gewebe und ionotrope Gele - Prinzip einer Strukturbildung.

Akad. Verlagsges. Frankfurt/Main

- Unshelm, J. und D. Flock (1967)
Die Konzentration des anorganischen Phosphors und die Aktivität der alkalischen Phosphatase im Blutplasma von Rindern in Abhängigkeit vom Alter und anderen Einflußfaktoren.
Zbl. Vet. Med. 14 A, 528-547
- Urry, D. W. (1971)
Neutral sites for calcium ion binding to elastin and collagen: a charge neutralisation theory for calcification and its relationship to atherosclerosis.
Proc. National Acad. Sci. 68 (4), 810-814
- Warkany, J. (1928, a)
Die phosphatämische Kurve des normalen und rachitischen Organismus.
Z. Kinderheilk. 46, 1-12
- Warkany, J. (1928, b)
Die phosphatämische Kurve des normalen und rachitischen Organismus, II. Mitteilung.
Z. Kinderheilk. 46, 716-722
- Warkany, J. (1929)
Die phosphatämische Kurve des normalen und rachitischen Organismus. III. Mitteilung.
Z. Kinderheilk. 48, 654-659
- Warkany, J. (1930, a)
Die phosphatämische Kurve des normalen und rachitischen Organismus. IV. Mitteilung.
Z. Kinderheilk. 49, 191-193
- Warkany, J. (1930, b)
Die phosphatämische Kurve des normalen und rachitischen Organismus. V. Mitteilung.
Z. Kinderheilk. 49, 259-270

- Warkany, J. und A. Wasitzky (1932)
Experimentelle Untersuchungen über die Ausscheidung
von Kalk, Phosphor und Kohlensäure nach Verabreichung
von großen Vigantoldosen.
Z. Kinderheilk. 53, 171-174
- Wase, A.W. (1972)
Effect of Solanum malacoxylon on serum calcium and
phosphate in laboratory animals.
Federation Proc. 31 (2), 708
- Wassermann, R.H. (1974)
Calcium absorption and calcium-binding protein synthesis:
Solanum malacoxylon reverses strontium inhibition.
Science 183, 1092-1094
- Windaus, A. und A. Lüttringhaus (1931)
Einige Bemerkungen über das antirachitische Vitamin
aus bestrahltem Ergosterin.
Z. Physiol. Ch. 203, 70-75
- Worker, N.A. und J. Carillo (1967)
"Enteque seco" calcification and wasting in grazing
animals in the Argentine.
Nature 215, 72-74

Herrn Prof. Dr. G. Dirksen danke ich herzlich für die Überlassung des Themas und die mir stets gewährte Unterstützung bei der Durchführung der Arbeit.

Weiterhin danke ich Herrn Prof. Dr. J. von Sandersleben sowie Herrn Dr. T. Hänichen für die freundlicher Weise im Institut für Tierpathologie der Universität München durchgeführten pathologisch-anatomischen Untersuchungen.

Herrn Prof. Dr. U. Simon, Herrn Dr. P. Daniel sowie Herrn A. Gockel vom Institut für Grünlandwirtschaft und Futterbau der Justus Liebig-Universität Gießen sei herzlich gedankt für die Unterstützung bei den in Gießen ausgeführten Experimenten.

Herrn Dr. A. Spieß vom Tiergesundheitsdienst Bayern e.V., Geschäftsstelle Kempten, und Herrn Landwirt H. Maidel danke ich für die stets freundlich gewährte Unterstützung.

Schließlich gilt mein Dank Herrn Dr. K. Osterkorn vom Institut für Tierzucht und Tierhygiene der Universität München für die Beratung und Durchführung der statistischen Berechnungen.

L e b e n s l a u f

Am 18. 12. 1948 wurde ich, Manfred Ludwig Wolf, als Sohn des Notars Wilhelm Wolf und seiner Ehefrau Albertine, geb. Nassl, in Ulm geboren.

Nach vier Grundschuljahren in Langenau von 1955 bis 1959 und anschließendem sechsjährigen Besuch des Progymnasiums am gleichen Ort wechselte ich auf das Schubart-Gymnasium in Ulm über, das ich am 19. 6. 1967 mit dem Zeugnis der Reife verließ.

Von Juli 1967 bis Oktober 1968 leistete ich meinen Wehrdienst ab.

Von 1968 bis 1973 studierte ich an der Justus Liebig-Universität in Gießen Veterinärmedizin. Nach Bestehen der Tierärztlichen Prüfung am 29. 11. 1973 und Erhalt der Bestallung begann ich unter Anleitung von Prof. Dr. G. Dirksen mit der Arbeit an meiner Dissertation. Seit Oktober 1974 bin ich als Verwalter der Dienstgeschäfte eines wissenschaftlichen Assistenten an der Medizinischen Tierklinik II der Ludwig-Maximilians-Universität in München tätig.

Im September 1975 heiratete ich die Tierärztin Eva Schubert.

CHAPTER I

THE first thing I noticed when I awoke, was that I was alone. The room was empty, except for a single chair and a small table. I looked at the clock on the wall, and saw that it was ten o'clock. I had no idea where I was, or how I had gotten there.

I tried to remember what had happened, but my mind was blank. I felt a sense of panic, and I tried to get up, but my legs were numb. I sat on the edge of the bed, and tried to breathe. I felt like I was in a dream, and I didn't know how to wake up.

I looked at the door, and saw that it was closed. I tried to open it, but I couldn't. I felt like I was trapped, and I didn't know what to do.

I tried to think of a way out, but I couldn't. I felt like I was in a maze, and I didn't know how to get out. I tried to call for help, but I didn't know what to say. I felt like I was alone in the world, and I didn't know how to survive.

I tried to think of a way out, but I couldn't. I felt like I was in a maze, and I didn't know how to get out. I tried to call for help, but I didn't know what to say. I felt like I was alone in the world, and I didn't know how to survive.

